



Joana Isabel da Silva Fernandes

Mestrado Integrado em Engenharia Química e Bioquímica

Efeito da adição de Plastificantes na Libertação Controlada de Naproxeno de Partículas de Etilcelulose

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química e Bioquímica

Orientadora: Professora Doutora Margarida Cardoso,
Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Isabel Maria Rola Coelho

Arguente: Prof. Doutor Vítor Manuel Delgado Mendes de Almeida
Cardoso



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro, 2013

Joana Isabel da Silva Fernandes

Mestrado Integrado em Engenharia Química e Bioquímica

Efeito da adição de Plastificantes na Libertação
Controlada de Naproxeno de Partículas de Etilcelulose

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química e Bioquímica

Orientadora: Professora Doutora Margarida Cardoso,
Universidade Nova de Lisboa

Efeito da adição de Plastificantes na Libertação Controlada de Naproxeno de Partículas de Etilcelulose

Copyright © Joana Isabel da Silva Fernandes, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Ao longo destes seis anos muitos foram os obstáculos que tive que alcançar sempre com a força e certeza de que um dia estaria com a maior das alegrias do mundo a escrever estes agradecimentos, sendo esse um sinal de que estaria a terminar esta etapa. Após uma longa batalha e com um sorriso nos lábios esse dia chegou, podendo assim agradecer a todas as pessoas que o proporcionaram.

Em primeiro lugar e de uma forma bastante especial quero agradecer à minha mãe e à minha irmã por todo o amor, todo o incentivo em ter força a todas as horas, toda a paciência que tiveram nestes anos, como também por serem grandes exemplos de trabalho, carácter, sabedoria e por todos os valores que me transmitiram ao longo da vida. Os bons exemplos que elas sempre me deram fazem-me querer ser uma pessoa melhor a cada dia.

Gostaria de agradecer também à minha orientadora, Professora Doutra Margarida Cardoso, pela oportunidade, paciência, conhecimentos transmitidos, como também pela confiança e pela liberdade de acção que permitiu com que este trabalho contribuísse para o meu desenvolvimento pessoal e intelectual.

Um obrigado também à D. Maria José e à D. Palminha por todo o apoio concedido, toda a paciência, simpatia, disponibilidade e ajuda no decorrer destes meses.

Por último, mas bastante importantes, gostaria de agradecer a todos os meus amigos dentro e fora da faculdade que de certa forma contribuíram com a sua amizade e estando sempre lá quando precisei. Joana obrigada por todos os cafés e todas aquelas grandes conversas, toda a paciência nas horas em que estava sob grande pressão, toda a amizade e simpatia demonstradas até hoje. Ana Ginja obrigada por esta amizade durante estes 14 anos, todas as risadas, todos os conselhos nas conversas intermináveis, toda essa amizade inigualável e difícil de encontrar. Por último, mas bastante importantes aos meninos do *let's go* por serem como são, por todo o companheirismo e amizade nestes últimos dois anos, por todas as festas e jantares, e por estarem lá sempre com uma piada para animar nos momentos mais difíceis.

Ao terminar esta etapa da minha vida é impossível esquecer todos aqueles que me ajudaram ao longo destes anos, no entanto eles sabem quem são, sendo impossível enumera-los a todos, terminando assim com um grande obrigado a todas as pessoas que contribuíram para o término desta etapa.

RESUMO

O objectivo principal deste trabalho consiste em estudar o efeito de alguns plastificantes na liberação controlada de um fármaco modelo, o Naproxeno. Para tal, produziram-se micropartículas compostas por um polímero biocompatível, a etilcelulose, pelo fármaco modelo e por plastificantes, pelo método de extracção/evaporação de solvente. Os plastificantes utilizados foram moléculas biocompatíveis: a vitamina k1, o α -tocoferol acetato, o ácido fólico, o tributil 2-acetilcitrato, o tributil citrato, o trietil 2-acetilcitrato, o trietil citrato, o isopropil miristato e o 1-oleoil-rac-glicerol. Foi também estudado o efeito da concentração destes plastificantes nas características das partículas e nas propriedades de liberação.

Após a produção de micropartículas, procedeu-se à sua respectiva caracterização segundo a sua morfologia e tamanho, propriedades térmicas e eficiência de encapsulamento tendo se recorrido a técnicas como microscopia electrónica de varrimento (SEM), calorimetria diferencial de varrimento (DSC) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Foram realizados ensaios de liberação de cada tipo de micropartículas em dois meios distintos, a pH=1.2 de modo a simular as condições gástricas e a pH=6.8 de modo a simular as condições intestinais, e foram calculadas as velocidades de liberação e a percentagem máxima de fármaco libertado. Para uma melhor compreensão dos perfis de liberação foram correlacionados os dados obtidos com dois modelos cinéticos, o modelo de Higuchi e o modelo de Korsmeyer-Peppas. Verificou-se que os ensaios de liberação a um pH=6.8 têm uma liberação de naproxeno mais rápida que os ensaios de liberação a um pH inferior.

Os plastificantes mais adequados são o ácido fólico 10% p/p e o 1-oleoil-rac-glicerol 10% p/p para liberação no estômago e o α -tocoferol acetato 30% p/p e o trietil citrato 30% p/p para liberação no intestino.

Termos Chave: Liberação Controlada de Fármacos, Micropartículas, Naproxeno, Etilcelulose, Plastificantes

ABSTRACT

The main objective of this work is to study the effect of some plasticizers in a controlled release formulation of a model drug, Naproxen. Therefore, microparticles composed of a biocompatible polymer, ethylcellulose, a plasticizer and the model drug were produced using an extraction / evaporation solvent method. The plasticizers used are biocompatible molecules: vitamin K1, α -tocopherol acetate, folic acid, tributyl 2-acetylcitrate, tributyl citrate, triethyl 2-acetylcitrate, triethyl citrate, isopropyl myristate and 1-oleoyl-rac-glycerol. It was also studied the effect of the plasticizers concentration on the particle characteristics drug and release properties.

After producing the microparticles, they were characterized in morphology and size by Scanning Electron Microscopy (SEM), thermal properties by Differential Scanning Calorimetry (DSC) and encapsulation efficiency by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Release tests were performed for each type of microparticles in two distinct environments, pH = 1.2 to simulate gastric conditions and pH = 6.8 to simulate intestinal conditions. Both the release rates and maximum percentage of drug released were calculated. In order to have a clear understanding of the release profiles, we correlated data from two kinetic models, the Higuchi and Peppas Korsmeyer models. It was observed that naproxen is released faster at a pH=6.8 than at a lower pHs.

The plasticizers that show a strong effect on naproxen release were folic acid 10% w/w and 1-oleoyl-rac-glycerol 10% w/w for release in gastric conditions and α -tocopherol acetate 30% w/w and triethyl citrate 30% w/w for release in intestinal conditions.

Keywords: Controlled Drug Release, microparticles, naproxen, ethylcellulose, plasticizer.

ÍNDICE

DIREITOS DE CÓPIA	I
AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	V
ABSTRACT	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABELAS	XV
LISTA DE ABREVIATURAS	XVII
 CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	 1
1.1. Mecanismos de Liberação Controlada	5
1.2. Modelos Cinéticos	7
1.3. Métodos de Produção de Micropartículas	9
1.4. Adição de Plastificantes	10
1.5. Fármaco Modelo: Naproxeno	13
1.6. Polímeros biodegradáveis: Etilcelulose	14
 CAPÍTULO 2 – MATERIAIS E MÉTODOS	 15
2.1. Materiais	17
2.2. Métodos	18
2.2.1. Preparação de micropartículas	18
2.2.2. Caracterização de micropartículas	19
2.2.3. Ensaio de Liberação	21
2.2.4. Métodos de Cálculos	21
 CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	 23
3.1 Caracterização das micropartículas	25
3.1.1. Morfologia e Tamanho	25
3.1.2. Propriedades Térmicas	31
3.1.3. Eficiência de Encapsulamento	33
3.2 Ensaio de Liberação	35
3.2.1. Família A (Vitamina K1, α -Tocoferol Acetato, Ácido Fólico)	35

3.2.2.	Família B (Trietil Citrato, Trietil 2-Acetilcitrato, Tributil Citrato, Tributil 2-Acetilcitrato)	41
3.2.3.	Família C (Isopropil Miristato, 1-Oleoil-rac-glicerol)	47
3.2.4.	Comparação dos perfis de liberação dos plastificantes das três famílias	50
3.3	Modelos Cinéticos	60
3.3.1.	Família A (Vitamina K1, α -Tocoferol Acetato, Ácido Fólico)	60
3.3.2.	Família B (Trietil Citrato, Trietil 2-Acetilcitrato, Tributil Citrato, Tributil 2-Acetilcitrato)	61
3.3.3.	Família C (Isopropil Miristato, 1-Oleoil-rac-glicerol)	62
CAPÍTULO 4 – CONCLUSÃO		64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		69
ANEXOS		73
6.1.	Termogramas Representativos de DSC	75
6.1.1.	Etilcelulose	75
6.1.2.	Família A	76
6.1.3.	Família B	77
6.1.4.	Família C	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. - Comparação ilustrativa das variações do nível plasmático de fármaco por (a) métodos convencionais de multidosagem e (b) sistema de liberação controlada. Sendo A a administração do fármaco.....	4
Figura 1.2. – Sistemas de liberação controlada	5
Figura 1.3. – Esquema dos dois tipos de sistema de difusão controlada.....	6
Figura 1.4. – Esquema representativo dos três mecanismos de liberação controlada para o sistema de matriz polimérica: por difusão, por inchamento da estrutura polimérica e por degradação estrutural do polímero.....	7
Figura 1.5. – Métodos físicos e químicos de microencapsulação.....	9
Figura 1.6. – Estrutura química do Naproxeno.....	13
Figura 1.7. – Estrutura química da Etilcelulose.....	14
Figura 2.1. – Esquema de preparação de micropartículas pelo método de evaporação do solvente numa emulsão o/w.....	19
Figura 3.1. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500.....	26
Figura 3.2. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + vitamina K1 com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500.....	26
Figura 3.3. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + α -tocoferol acetato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500.....	26
Figura 3.4. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + ácido fólico com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500.....	27
Figura 3.5 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	27
Figura 3.6 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + trietil citrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	28
Figura 3.7 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + trietil 2-acetilcitrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	28
Figura 3.8 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + tributil citrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	28
Figura 3.9 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + tributil 2-acetilcitrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	29
Figura 3.10 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	29
Figura 3.11 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + isopropil miristato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	30
Figura 3.12 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + 1-oleoil-rac-glicerol com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.....	30
Figura 3.13 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com vitamina k1 a pH=1.2.....	35

Figura 3.14 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com α -tocoferol acetato a pH=1.2.....	36
Figura 3.15 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com ácido Fólico a pH=1.2.	37
Figura 3.16 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com vitamina k1 a pH=6.8.	38
Figura 3.17 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com α -tocoferol acetato a pH=6.8.	38
Figura 3.18 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com ácido fólico a pH=6.8.	39
Figura 3.19 – Fotografia de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM após o ensaio de liberação a: a) pH=1.2 (40X); b) pH=6.8 (40X).	41
Figura 3.20 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + tributil citrato com naproxeno obtidas por SEM após o ensaio de liberação a: a) pH=1.2 (100X); b) pH=6.8 (500x).	41
Figura 3.21 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil citrato a pH 1.2.	42
Figura 3.22 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil 2-acetilcitrato a pH 1.2.	43
Figura 3.23 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil citrato a pH 1.2.	43
Figura 3.24 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil 2-acetilcitrato a pH 1.2.	44
Figura 3.25 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil citrato a pH=6.8.	45
Figura 3.26 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil 2-acetilcitrato a pH=6.8.....	45
Figura 3.27 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil citrato a pH=6.8.	46
Figura 3.28 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil 2-acetilcitrato a pH=6.8.	46
Figura 3.29 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com isopropil miristato a pH 1.2.	48
Figura 3.30 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com 1-oleoil-rac-glicerol a pH 1.2.	48
Figura 3.31 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas com Etilcelulose e de Etilcelulose com isopropil miristato a pH 6.8.	49
Figura 3.32 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com 1-oleoil-rac-glicerol a pH 6.8.	49
Figura 3.33 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% de plastificante da família A a pH=1.2.	51
Figura 3.34 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% de plastificante da <i>Família A</i> a pH=1.2.....	52

Figura 3.35 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da <i>Família A</i> a pH=6.8.....	53
Figura 3.36 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% dos plastificantes da <i>Família A</i> a pH=6.8.....	53
Figura 3.37 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% de plastificante da <i>Família B</i> a pH=1.2.....	54
Figura 3.38 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% de plastificante da <i>Família B</i> a pH=1.2.....	55
Figura 3.39 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da <i>Família B</i> a pH=6.8.....	56
Figura 3.40 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% dos plastificantes da <i>Família B</i>	56
Figura 3.41 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 5% dos plastificantes da <i>Família C</i> a pH=1.2.....	57
Figura 3.42 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da <i>Família C</i> a pH=1.2.....	58
Figura 3.43 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 5% dos plastificantes da <i>Família C</i> a pH=6.8.....	58
Figura 3.44 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da <i>Família C</i> pH=6.8.....	59
Figura 6.1 – Termograma das micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtido por DSC.....	73
Figura 6.2 – Termograma das micropartículas de etilcelulose+10% vitamina K1 com naproxeno obtido por DSC.....	74
Figura 6.3 – Termograma das micropartículas de etilcelulose+10% trietil citrato com naproxeno obtido por DSC.....	75
Figura 6.4 – Termograma das micropartículas de etilcelulose+10% trietil citrato com naproxeno obtido por DSC.....	76

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 – Estrutura e concentração dos plastificantes estudados.....	12
Tabela 3.1 – Dimensão das micropartículas das <i>Famílias A, B e C</i>	31
Tabela 3.2 – Temperatura de transição vítrea e temperatura de fusão da Etilcelulose nas micropartículas das <i>Famílias A, B e C</i>	32
Tabela 3.3 – Valores de carregamento de naproxeno e da eficiência de encapsulamento das micropartículas das <i>Famílias A, B e C</i>	33
Tabela 3.4 – Velocidade inicial de liberação de naproxeno das micropartículas com plastificantes da <i>Família A</i>	40
Tabela 3.5 – Velocidade inicial de liberação de naproxeno das micropartículas com plastificantes da <i>Família B</i>	47
Tabela 3.6 – Velocidade inicial de liberação de naproxeno das micropartículas com plastificantes da <i>Família C</i>	50
Tabela 3.7 – Valores dos parâmetros dos modelos de Korsmeyer-Peppas e de Higuchi das micropartículas da <i>Família A</i>	60
Tabela 3.8 – Valores dos parâmetros dos modelos de Korsmeyer-Peppas e de Higuchi das micropartículas da <i>Família B</i>	61
Tabela 3.9 – Valores dos parâmetros dos modelos de Korsmeyer-Peppas e de Higuchi das micropartículas da <i>Família C</i>	62

LISTA DE ABREVIATURAS

SEM	Microscopia Electrónica de Varrimento
DSC	Calorimetria Diferencial de Varrimento
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
NAP	Naproxeno
EC	Etilcelulose
DCM	Diclorometano
DMF	N,N-dimetilformamida
PBS	Tampão fosfato salino

1

Introdução

Ao longo das últimas décadas, os sistemas de libertação de fármaco foram alvo de estudo por muitos cientistas. Muitos fármacos têm como objectivos terapêuticos atingir em fase estacionária níveis de concentração adequados nos tecidos, que não sejam tóxicos e que sejam terapeuticamente eficazes. Este objectivo só é possível através da optimização da sua administração e controlando a velocidade de libertação e absorção do fármaco.^[1]

Actualmente, existem vários sistemas de libertação de fármacos tais como: libertação imediata, em que não existe intenção de atrasar ou prolongar a absorção do fármaco; libertação modificada, em que existe tanto a intenção de prolongar como de atrasar a absorção do fármaco; libertação retardada, em que o fármaco não é libertado imediatamente após a sua administração; libertação prolongada, em que o fármaco está disponível num período de tempo prolongado após a sua administração; e libertação controlada, em que é controlada a quantidade de fármaco libertada e o tempo de libertação. Perante os vários sistemas de libertação, vários autores afirmam que o sistema de libertação controlada é o mais adequado.^{[2][3]}

A libertação controlada é definida como o processo pelo qual um ou mais agentes activos são libertados a velocidades pré-definidas, por um período de tempo prolongado após a sua administração. Este sistema de libertação representa uma das muitas técnicas avançadas na área da ciência para a saúde humana e para a qual vários químicos e engenheiros químicos contribuíram. Comparativamente ao método convencional, a libertação controlada é bastante vantajosa, pelo facto da frequência de administração do medicamento ser reduzida tornando o tratamento mais cómodo para o doente. Uma outra vantagem, corresponde ao facto deste sistema ser mais eficaz uma vez que se consegue ter concentrações de fármaco óptimas no sangue reduzindo assim os efeitos secundários. Desta forma, a toxicidade é minimizada, através da manutenção de concentrações de princípio activo controladas no período de tempo desejado.

[1] [4]

Quando se administra um fármaco no organismo, apenas uma pequena fracção da dose atinge o tecido alvo, sendo a sua maior parte desperdiçada devido à sua adesão em tecidos indesejáveis ou excreção antes de atingir o local de acção. Desta forma, com o intuito de se modificar e melhorar a biodistribuição do fármaco recorre-se à utilização de micropartículas que são bastante vantajosas na libertação controlada. A diminuição da toxicidade, o aumento da eficácia terapêutica devido à libertação controlada do fármaco e o facto de poderem ser administradas directamente no local de acção, são algumas das vantagens da utilização das micropartículas. Outras vantagens das micropartículas são o facto de serem fáceis de fabricar devido à grande variedade de materiais poliméricos biocompatíveis e mecanicamente resistentes, oferecerem flexibilidade na dosagem do fármaco encapsulado, o facto de serem degradadas por reacções

simples de hidrólise, como também por não produzirem produtos tóxicos. Para além destas vantagens, as micropartículas apresentam uma elevada área superficial, podem sofrer modificações na sua superfície e protegem as propriedades do fármaco aumentando assim a sua estabilidade.^[30-34]

A comparação das variações do nível plasmático de fármaco por métodos convencionais de multidosagem e por sistema de libertação controlada encontra-se representada na Figura 1.1.

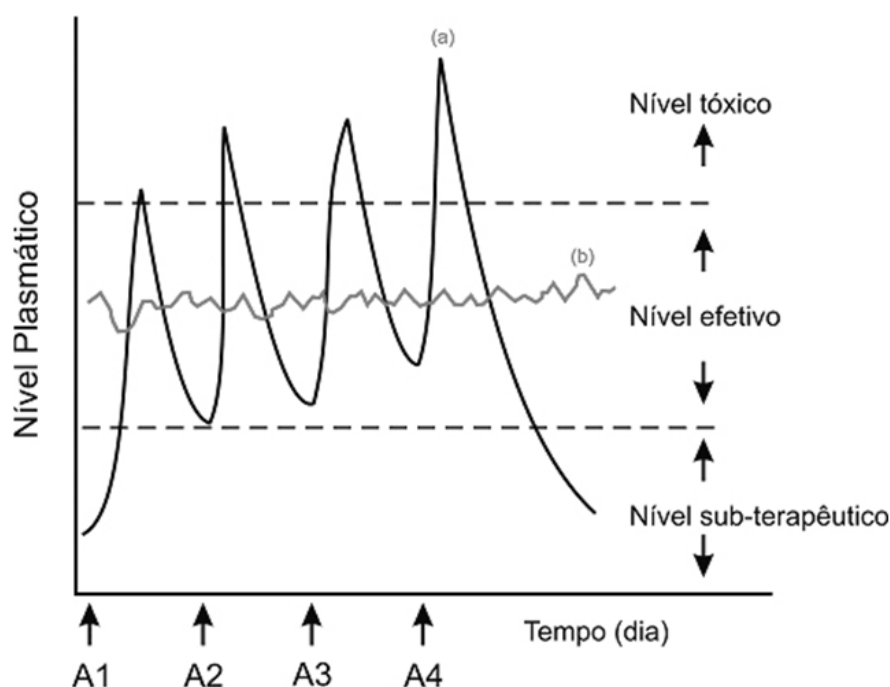


Figura 1.1. - Comparação ilustrativa das variações do nível plasmático de fármaco por (a) métodos convencionais de multidosagem e (b) sistema de libertação controlada. Sendo A a administração do fármaco.^[3]

No entanto, a libertação controlada também tem desvantagens que têm que ser tidas em conta no momento da escolha do tratamento de um doente. Algumas desvantagens, são o facto de não permitir o fim imediato da sua acção terapêutica, como também não haver tanta flexibilidade no ajustamento dos regimes posológicos que são fixados durante a concepção da forma farmacêutica, e por último os factores económicos também tem que ser tidos em conta pois estão envolvidos processos e equipamentos mais dispendiosos.^[1]

1.1. Mecanismos de liberação controlada

Os sistemas de liberação de fármaco podem ser classificados de acordo com o mecanismo de liberação controlada. O conhecimento do mecanismo de liberação do princípio activo em estudo é importante para que se possa obter uma cinética adequada. Na figura seguinte são mencionados os sistemas de liberação controlada nos mecanismos mais comuns.

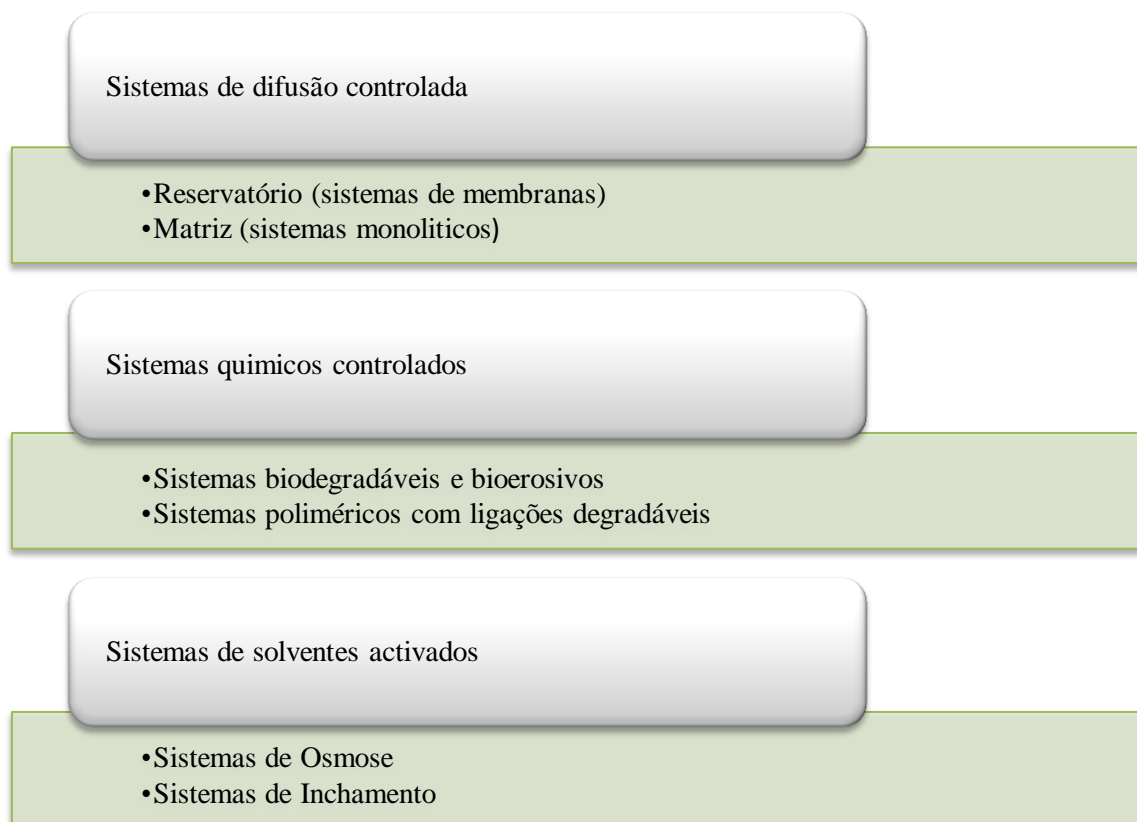


Figura 1.2. - Sistemas de liberação controlada (adaptado de [8])

Muitos investigadores consideram os sistemas de difusão controlada como sendo os sistemas mais comuns. Neste tipo de sistemas, ocorre a difusão de um fármaco dissolvido ou disperso através da matriz do sistema ou da membrana que reveste o reservatório, a sua dissolução no meio externo e a difusão do fármaco da interface para a solução. ^{[2][10]}

Os sistemas de difusão controlada podem ser constituídos por dispositivos de reservatório ou por matrizes poliméricas.

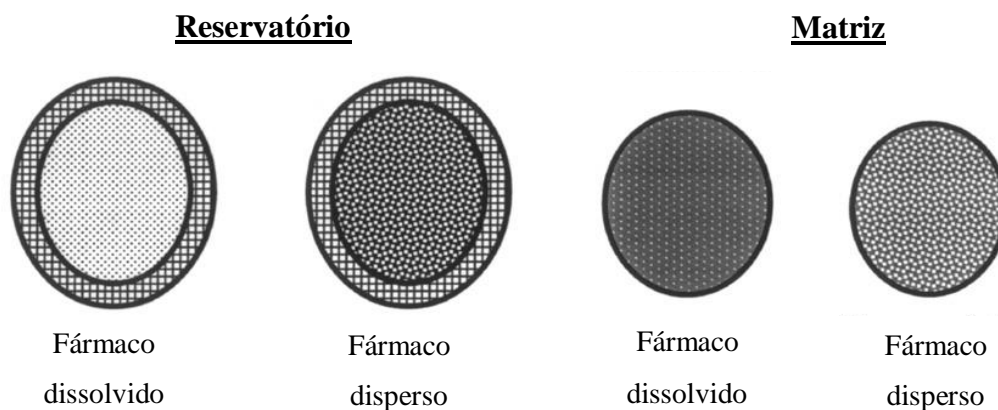


Figura 1.3. - Esquema dos dois tipos de sistema de difusão controlada ^[10]

Os sistemas de reservatório são compostos por um núcleo que contém o fármaco dissolvido ou disperso, rodeado por uma membrana polimérica. A difusão do princípio activo para o meio exterior ocorre através da membrana, sendo a velocidade controlada pela espessura, permeabilidade e área da membrana. Por sua vez, nos sistemas de matriz polimérica o fármaco está uniformemente dissolvido ou disperso no interior da matriz. O princípio activo difunde-se gradualmente através da matriz ou através da entrada de fluidos que fazem com que as cadeias poliméricas obtenham flexibilidade aumentando assim a velocidade de libertação. ^{[10] [11]}

A velocidade de libertação é, neste caso, dependente da concentração de princípio activo na matriz, da difusividade deste na matriz e da geometria/tamanho do sistema.

Neste trabalho foram estudados os sistemas de matriz polimérica, em que consoante as características do polímero, o fármaco pode ser libertado por difusão, degradação ou inchamento da matriz.

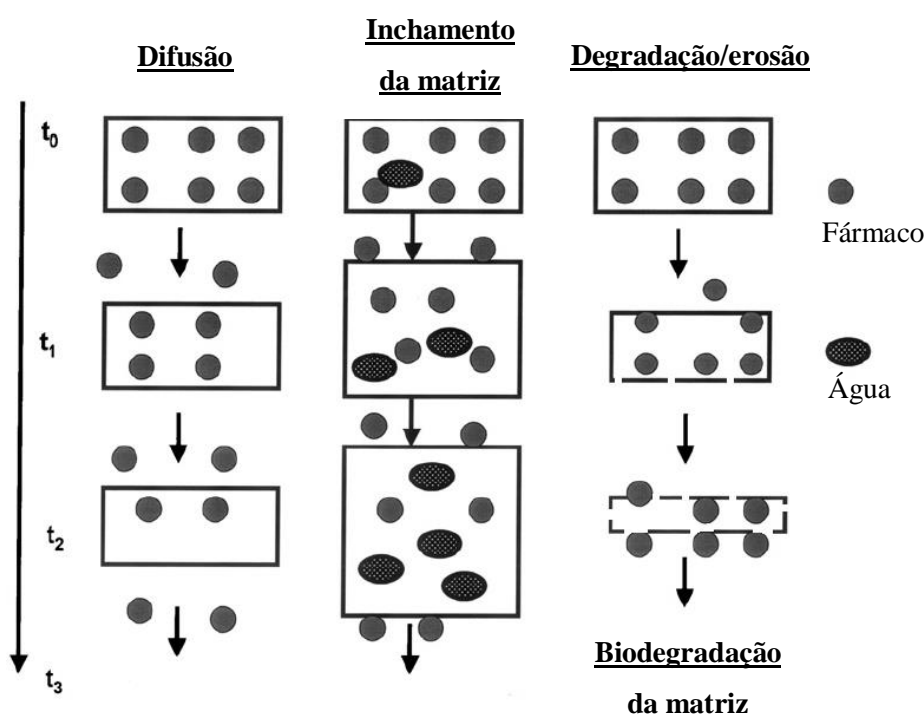


Figura 1.4. – Esquema representativo dos três mecanismos de liberação controlada para o sistema de matriz polimérica: por difusão, por inchamento da estrutura polimérica e por degradação estrutural do polímero.

O mecanismo de liberação de fármaco por difusão, como se pode observar na Figura 1.4., consiste no transporte de moléculas do princípio activo através da matriz polimérica para o meio exterior. O segundo mecanismo, a liberação de fármaco por inchamento da matriz acontece quando água entra na matriz polimérica, fazendo com que as cadeias do polímero adquiram flexibilidade de modo a que as moléculas de princípio activo se vão libertando. Este processo depende do material polimérico. Por último, o processo de degradação da matriz por hidrólise das cadeias poliméricas e consequente liberação do princípio activo. Este processo pode ocorrer em simultâneo com a liberação por difusão. ^{[10][12]}

1.2. Modelos Cinéticos

No desenvolvimento de dispositivos farmacêuticos de liberação controlada, a utilização de modelos matemáticos, que permitam prever e otimizar a cinética de liberação e assim obter uma maior eficácia, tem sido uma mais-valia. Através da sua utilização existe a possibilidade de simular o efeito dos parâmetros delineados, reduzir o número de experiências necessárias e facilitar o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos. ^[3]

Ao longo dos anos foram desenvolvidos diversos modelos matemáticos, sendo os mais comuns apresentados em seguida. No entanto apenas dois destes foram estudados neste trabalho, o modelo de Higuchi e o modelo cinético Korsmeyer-Peppas.

Modelo de ordem zero: Este modelo é caracterizado por uma liberação constante ao longo do tempo, não dependendo assim da quantidade de fármaco presente nas partículas, sendo representado pela seguinte equação:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (1.1)$$

Onde Q_t é a quantidade de fármaco libertada no tempo t , Q_0 é a quantidade de fármaco libertada no início do processo de libertação (burst release) e K_0 corresponde à constante de libertação de ordem zero. ^{[2][4][12-15]}

Modelo de Higuchi (cinética de meia ordem): Na cinética de Higuchi o decréscimo da taxa de libertação é proporcional à raiz quadrada do tempo. Higuchi desenvolveu este modelo teórico para estudar a libertação de água e fármacos pouco solúveis incorporados em semi-sólidos ou sólidos. As expressões matemáticas foram obtidas para partículas de fármaco disperso numa matriz uniforme, comportando-se como meios de difusão.

$$Q_t = K_H t^{1/2} \quad (1.2)$$

Onde K_H corresponde à constante de libertação de Higuchi. ^{[2][4][12-15]}

Modelo de primeira ordem: A velocidade de libertação depende da quantidade de fármaco, sendo proporcional à concentração de princípio activo presente nas partículas.

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t \quad (1.3)$$

Onde K_1 corresponde à constante de libertação de primeira ordem. ^{[2][4][12-15]}

Modelo de Korsmeyer-Peppas: Este modelo cinético é utilizado para confirmar o mecanismo de libertação de fármaco a partir da análise dos primeiros 60% de fármaco libertado e através da determinação do valor de n pela seguinte expressão.

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_k t^n \quad (1.4)$$

Onde Q_∞ é a quantidade total de fármaco e n é um parâmetro empírico que caracteriza o mecanismo de libertação. Se $n=0,5$, a difusão e libertação de fármaco da matriz polimérica segue uma difusão Fickiana; se $n=1$ a difusão é completamente não-Fickiana (ou mecanismo de transporte caso II) onde o mecanismo de transporte de fármaco está associado ao stress e estado de transição em polímeros hidrófilicos vítreos que incham em água ou fluidos biológicos; e se

$0,5 < n < 1$ o transporte do fármaco é anômalo, isto é, podem ocorrer os dois fenômenos em simultâneo: difusão e transporte caso II. ^{[2][4][12-15]}

1.3. Métodos de produção de micropartículas

A produção de micropartículas pode ser realizada através de vários métodos que podem ser divididos em duas categorias: métodos físicos/mecânicos e métodos químicos, sendo, no entanto, difícil essa distinção em muitas situações. Os métodos físicos são caracterizados por envolverem reacções na formação da partícula. Por sua vez, os métodos químicos baseiam-se em reacções químicas ou em diferentes solubilidades do polímero e fármaco em solventes. ^{[18][19]} Na figura seguinte são apresentados alguns métodos de produção, separados nas duas categorias.

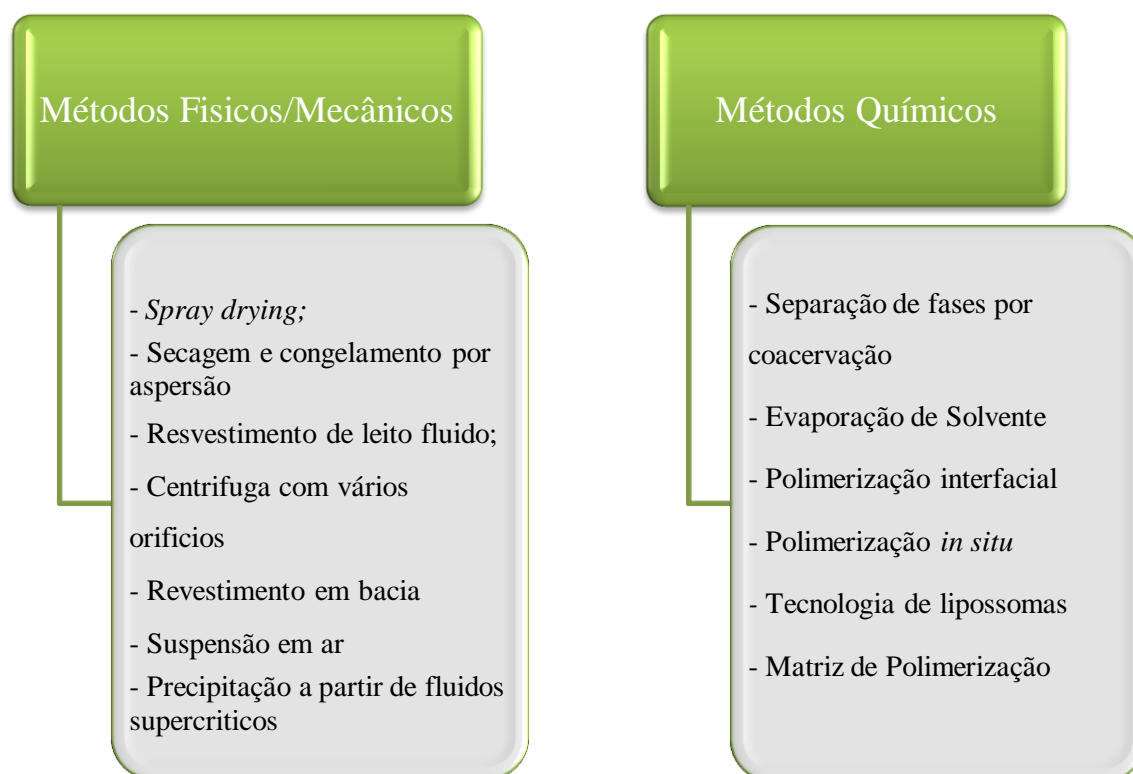


Figura 1.5. – Métodos físicos e químicos de microencapsulação. ^{[18][19][26]}

O método utilizado neste trabalho foi o método de extracção/evaporação do solvente:

Extracção/ Evaporação de Solvente

O método de extracção/evaporação de solvente consiste em dissolver o polímero de revestimento da micropartícula num solvente, que seja imiscível com a fase líquida. O material do núcleo a ser encapsulado, neste caso o princípio activo em estudo, é adicionado à solução orgânica do polímero de revestimento. Esta solução contendo o polímero e o princípio activo é adicionada, sob agitação controlada, a uma fase líquida imiscível contendo um emulsificante formando-se assim uma emulsão. A emulsão permanece sob agitação durante um determinado tempo em que ocorre a difusão do solvente para a fase líquida e a sua posterior evaporação. Com a evaporação do solvente, o polímero de revestimento precipita na forma de micropartículas. O tamanho das micropartículas é determinado pela velocidade e tempo de agitação, tipo e concentração de emulsificante e tipo de solvente. Este parâmetro reveste-se da maior importância uma vez que determina o tipo de administração das partículas: oral, intravenoso, subcutâneo, etc. ^{[1][23]} No Capítulo 2, pode-se observar o esquema do método de extracção/evaporação de solvente utilizado.

1.4. Adição de plastificantes

Os plastificantes têm um papel bastante importante na produção de micropartículas para libertação controlada, isto é, melhoram a flexibilidade e processabilidade de polímeros através da diminuição da temperatura de transição vítrea.

Nos processos de produção de micropartículas, os plastificantes têm um papel fundamental pois influenciam significativamente a qualidade dos revestimentos e influenciam o processo de libertação do fármaco incorporado. O mecanismo de formação da película de revestimento é um processo complexo influenciado principalmente pelo tipo e concentração do plastificante. A temperatura abaixo do qual um revestimento não forma uma película coesa contínua corresponde ao mínimo de formação de película que é a temperatura mínima acima da Tg do polímero. Para além de influenciarem a facilidade de processamento do revestimento, os plastificantes reduzem a Tg do polímero, afectando assim a cinética de libertação do princípio activo, isto é, quanto maior a concentração do plastificante, maior a velocidade de libertação.

Uma vantagem da utilização de plastificantes no processo de produção de partículas, está relacionada com o facto de que se estas forem produzidas com polímeros puros, os revestimentos são geralmente quebradiços, o que não acontece quando se utiliza plastificantes pois o revestimento adquire mais flexibilidade através da redução das forças intermoleculares

coesivas entre as cadeias de polímeros. Ao aumentar a flexibilidade, aumenta a tensão de alongamento e diminui a força de tração e o módulo de elasticidade do polímero.

No entanto, a utilização de plastificantes também tem desvantagens como todos os processos. A incompatibilidade polímero-plastificante influencia as propriedades mecânicas assim como a liberação do fármaco das partículas.

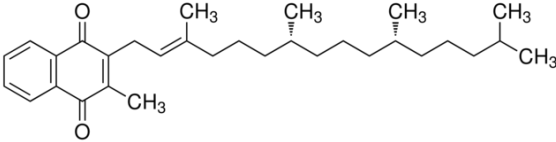
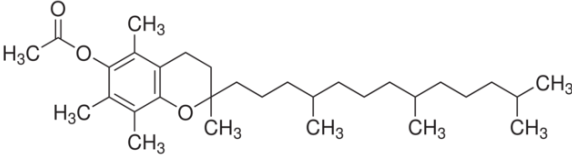
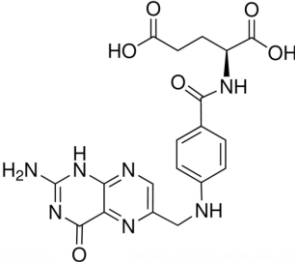
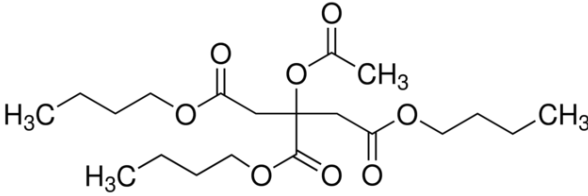
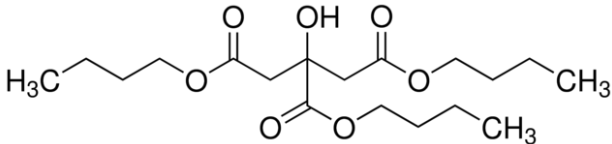
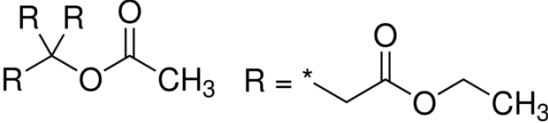
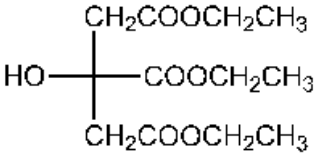
Na bibliografia podem-se encontrar alguns estudos de liberação controlada onde se utilizaram diferentes plastificantes. Foram estudadas microesferas com hidroxipropil metilcelulose e etilcelulose onde o plastificante utilizado foi o dietil ftalato em diferentes concentrações variando entre os 5% e os 25%. Verificou-se que com o aumento da concentração de princípio activo, a velocidade de liberação diminui, por sua vez com o aumento da concentração de plastificante a velocidade de liberação aumentou. Num outro estudo onde se produziram micropartículas tendo como princípio activo a indometacina e que utilizam o polímero poli(metil metacrilato), verificou-se que nas partículas sem plastificante o tempo de liberação do fármaco era de 8h, por sua vez com a adição de triacetina como plastificante, a liberação de princípio activo durou 24h. Através do auxílio de técnicas como a transformada de Fourier e espectroscopia de ressonância magnética observaram-se interações entre a indometacina e o polímero. Já no caso do plastificante triacetina não se observaram interações entre a triacetina e a indometacina ou o polímero. Os plastificantes usados têm, no entanto, desvantagens, por serem nalguns casos tóxicos, como o ftalato, ou apresentarem elevadas solubilidades em água, como a triacetina, provocando uma perda do plastificante quer no processo de produção das micropartículas quer no processo de liberação do fármaco.^[29]

Neste trabalho foram estudados nove plastificantes escolhidos de entre um conjunto de moléculas biocompatíveis e de baixa solubilidade em água, contendo grupos C=O, de modo a poderem estabelecer ligações intermoleculares com a molécula de etilcelulose, nomeadamente com o grupo OH. Por forma a simplificar a apresentação de dados, os plastificantes estudados foram divididos em três famílias consoante as suas características.

A família A é constituída por vitaminas em que nas suas estruturas químicas existe um anel, por sua vez a família B é constituída por citratos e por último a família C é composta por plastificantes com uma estrutura molecular mais linear. Para cada uma das famílias foi estudada a adição de plastificante em diferentes concentrações.

Os plastificantes correspondentes às famílias estudadas estão representados na seguinte tabela.

Tabela 1.1. – Estrutura e concentração dos plastificantes estudados

Família	Plastificantes	Estrutura Molecular	Concentrações estudadas (% p/p)
A	Vitamina K1		10% 30%
A	α -Tocoferol Acetato		10% 30%
A	Ácido Fólico		5% 10%
B	Tributil 2-Acetilcitrato		10% 30%
B	Tributil Citrato		10% 30% 40%
B	Trietil 2-Acetilcitrato		10% 30%
B	Trietil Citrato		10% 30%

C	Isopropil Miristato	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$	5% 10%
C	1-Oleoil-rac- glicerol	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	5% 10%

1.5. Fármaco modelo: Naproxeno

Neste trabalho, o fármaco modelo utilizado no encapsulamento em micropartículas foi o naproxeno. Este apresenta-se na forma de um pó branco cristalino, sendo praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool e metanol e bastante solúvel em éter. A sua fórmula química é $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3$ com uma massa molecular de 230,3 g/mol. A estrutura química do naproxeno encontra-se representada na Figura 1.6.

O Naproxeno é um anti-inflamatório que pertence à classe terapêutica não esteroide (AINE) do grupo dos derivados do ácido propiônico com propriedades analgésicas e antipiréticas, sendo indicado para tratamentos terapêuticos como a artrite reumatóide, osteoartrite, profilaxia de enxaqueca, situações articulares e musculares, como também para o alívio das dores crônicas resultantes de um processo inflamatório. [32]

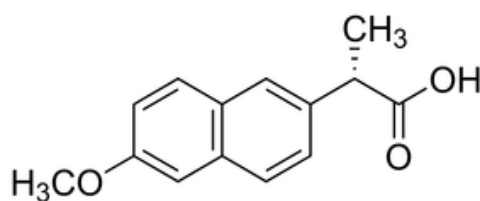


Figura 1.6. – Estrutura química do Naproxeno

Este fármaco pode, no entanto, causar irritação gástrica quando presente em elevadas concentrações, podendo provocar hemorragias e úlceras. Quando administrado em formulações

convencionais é rapidamente absorvido causando picos de concentração sérica em 1-2 horas e apresenta um tempo de meia vida pequeno, o que obriga a várias tomadas diárias. Assim, a sua incorporação em sistemas de liberação controlada, que não só protegem a molécula de fármaco aumentando o tempo de meia vida, como permitem que a sua liberação seja lenta evitando picos de concentração e permitem um aumento de eficácia e do conforto do tratamento.

1.6. Polímeros biodegradáveis: Etilcelulose

Várias classes de polímeros têm sido investigadas como materiais de sistemas de liberação controlada. A utilização de misturas de polímeros apresenta várias vantagens uma vez que permite otimizar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos sistemas ajustando o tipo e concentração dos polímeros utilizados. A etilcelulose é um polímero biocompatível hidrofóbico derivado de celulose que tem uma ampla aplicação na alimentação, na cosmética e na área farmacêutica. A etilcelulose é solúvel numa grande variedade de solventes orgânicos, não é tóxica, é incolor, não tem cheiro, tem boa capacidade de formação de revestimento com resistência mecânica, tem um custo relativamente baixo e é bastante estável na maioria das condições ambientais. A estrutura química da etilcelulose encontra-se representada na Figura 1.7. A etilcelulose é insolúvel em água e no meio gastrointestinal, podendo ser usada em combinação com substâncias solúveis em água para preparar partículas que sejam pouco solúveis em água. Este tipo de combinação é bastante utilizado na preparação de revestimentos para liberação controlada de substâncias activas em comprimidos. ^{[1][28]}

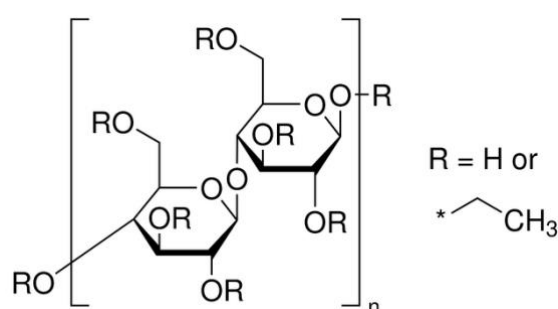


Figura 1.7. – Estrutura química da Etilcelulose

2

Materiais e Métodos

Neste capítulo são apresentados os métodos utilizados no estudo em causa. Prepararam-se micropartículas utilizando etilcelulose como polímero, metilcelulose como emulsificante, naproxeno como fármaco e plastificantes de famílias diferentes e em várias concentrações de modo a se observar qual o efeito destes na liberação controlada do fármaco. A preparação das partículas foi realizada através da técnica de evaporação de solvente numa emulsão óleo/água. Posteriormente realizou-se a caracterização das micropartículas, estudando a sua morfologia e tamanho por Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM), propriedades térmicas por Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) e a sua eficiência de encapsulamento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Foram realizados estudos de liberação do fármaco a pH=1.2 (simulando as condições gástricas) e a pH=6.8 (simulando as condições intestinais).

2.1. Materiais

O fármaco utilizado neste estudo foi o Naproxeno (NAP) fornecido pela Sigma Aldrich. Os plastificantes testados fornecidos pela Sigma Aldrich foram: vitamina K1, α -tocoferol acetato, ácido fólico, tributil citrato, trietil citrato, tributil 2-acetilcitrato, trietil 2-acetilcitrato, isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol.

Para a produção das micropartículas foram utilizadas etilcelulose (EC), com um teor em grupos etoxil de 48-49.5 % p/p, e metilcelulose fornecidas pela Fluka; e diclorometano (DCM) com uma pureza de 99,9% fornecido pela Panreac.

Na eficiência de encapsulamento determinada por HPLC foram utilizados: N,N-dimetilformamida (DMF) com 99,8% de pureza e acetonitrilo fornecidos pela Panreac.

Para a realização dos ensaios de liberação foi necessária a utilização de ácido clorídrico e cloreto de sódio sólido fornecidos pela Panreac; e tampão fosfato salino (PBS) fornecido pela Sigma Aldrich.

2.2. Métodos

Neste estudo foram produzidas micropartículas contendo naproxeno e diferentes concentrações de diferentes plastificantes. As micropartículas produzidas foram posteriormente, caracterizadas quanto à morfologia e tamanho por SEM, quanto às propriedades térmicas por DSC e à eficiência de encapsulamento por HPLC. Por último, de modo a estudar o perfil cinético da liberação de naproxeno das micropartículas realizaram-se ensaios de liberação.

2.2.1. Preparação de micropartículas

O método utilizado para a preparação das micropartículas foi o método de evaporação de solvente representado na Figura 2.1. Na preparação de micropartículas vazias, dissolve-se 1g de etilcelulose em 10 ml de diclorometano. Esta solução orgânica é lentamente adicionada a 125 mL de solução aquosa de metilcelulose 0,5% P/V sob agitação com um agitador de vidro com 2 pás à temperatura ambiente, durante 1 hora e a uma velocidade de agitação de 800 rpm.

Na preparação de micropartículas carregadas com fármaco ou contendo plastificantes, o método de preparação é semelhante ao descrito acima sendo adicionadas 0,6g de fármaco e a quantidade de plastificante adequada à concentração pretendida à solução orgânica inicial. A percentagem de concentração de plastificante é relativa à concentração de polímero utilizado.

A emulsão de óleo em água (o/w) formada, permanece sob agitação magnética durante 4 horas de modo a que ocorra a evaporação do solvente. Com a remoção do solvente, o polímero precipita com o fármaco no seu interior. As micropartículas formadas são lavadas três vezes em 100 mL de água destilada e posteriormente são liofilizadas.

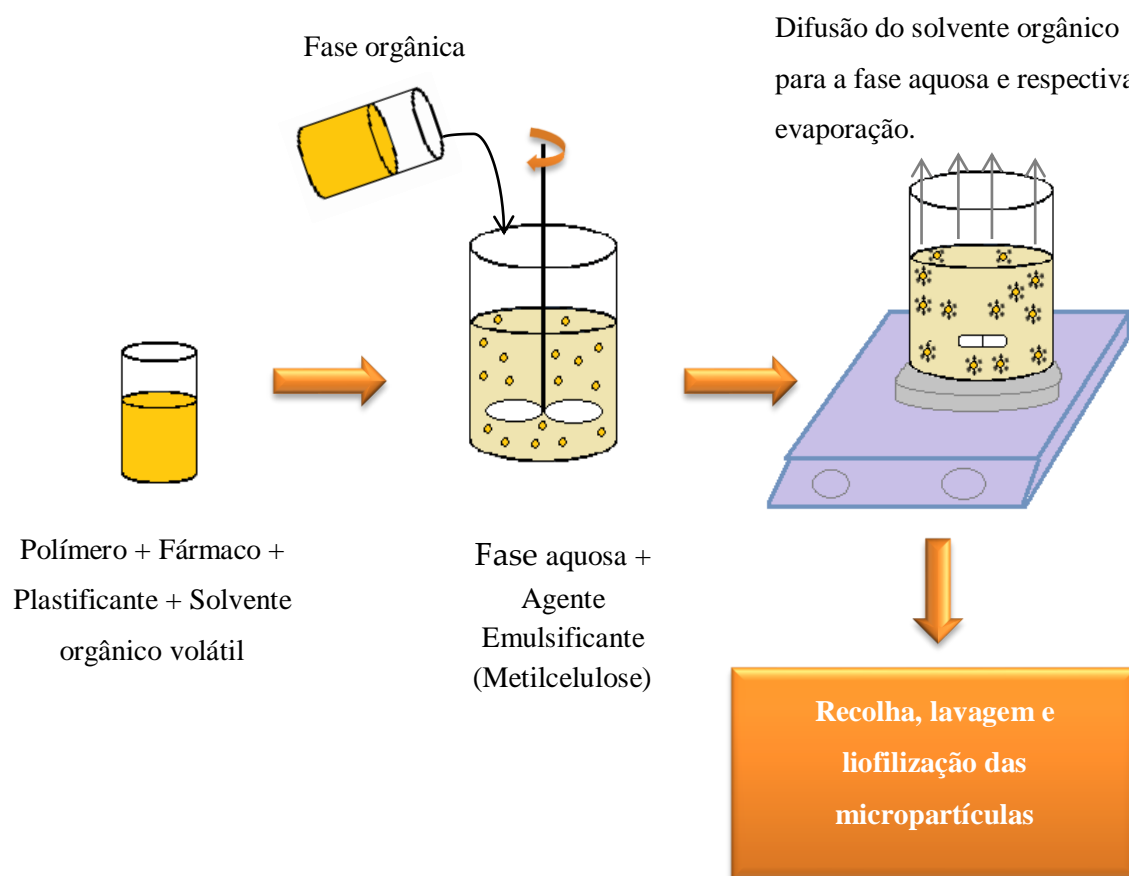


Figura 2.1. - Esquema de preparação de micropartículas pelo método de evaporação do solvente numa emulsão o/w.

Foram produzidas micropartículas contendo os plastificantes: tributil citrato, tributil 2-acetilcitrato, trietil citrato, trietil 2-acetilcitrato, vitamina K1, α -tocoferol acetato, ácido fólico, isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol com concentrações entre 5% e 40% p/p.

2.2.2. Caracterização das micropartículas

Morfologia e tamanho por SEM (– Scanning Electron Microscopy)

A microscopia electrónica de varrimento é utilizada para a caracterização da morfologia externa das micropartículas. As amostras, dispostas num suporte de amostras de alumínio, foram revestidas com ouro e paládio e analisadas por um microscópio electrónico de varrimento da marca Hitachi, modelo 52400.

O tamanho das micropartículas foi obtido por análise e tratamento estatístico das fotografias de SEM obtidas.

Propriedades Térmicas por DSC (– Differential Scanning Calorimetry)

A Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) é utilizada para medir entalpias associadas a transições de fase e determinar as temperaturas a que esses processos ocorrem. Este método é usado para a identificação e caracterização de materiais. Cerca de 10 mg micropartículas foram colocadas em cápsulas de alumínio e seladas, sendo submetidas inicialmente a um aquecimento rápido até 150°C e posteriormente a um aquecimento controlado a 10°C/min até 250°C sob atmosferas de azoto.

Eficiência de Encapsulamento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Dissolveram-se 5 mg de micropartículas em 5 mL de DMF e 45 mL de tampão fosfato (pH=6.8). A solução foi centrifugada a 7000 rpm, 22°C e durante 20 minutos, sendo retirado o sobrenadante para análise da quantidade fármaco por HPLC.

Foi utilizada uma coluna de HPLC RP-18 (Merck, Germany) e um eluente de acetonitrilo:tampão acetato (pH=3.5) 60:40 v/v a um caudal de 0,8 mL/min.

O fármaco foi detectado com um detector de UV (Merck Hitachi) no comprimento de onda de 230 nm.

A Eficiência de Encapsulamento (EE) consiste na razão entre a quantidade de fármaco que está presente nas micropartículas produzidas e a quantidade utilizada na sua produção.

$$EE (\%) = \frac{\text{quantidade de fármaco presente nas partículas}}{\text{quantidade de fármaco adicionada na sua produção}} \times 100 \quad (2.1)$$

A percentagem de carregamento de naproxeno nas micropartículas foi calculada pela seguinte equação:

$$\text{Carregamento de Naproxeno (\%)} = \frac{\text{massa de fármaco nas micropartículas}}{\text{massa das micropartículas}} \times 100 \quad (2.2)$$

2.2.3. Ensaios de liberação

Com o objectivo de estudar os perfis de liberação de fármaco ao longo do tempo foram realizados ensaios de liberação de naproxeno numa solução de 0,15M NaCl a pH=1.2, de forma a simular o meio gástrico, e numa solução de tampão fosfato a pH=6.8 de modo a simular o meio intestinal.

Adicionaram-se 4 mg de micropartículas a 200 mL de solução a pH=1.2 ou pH=6.8, consoante o meio a estudar, sob agitação de 160 rpm e a uma temperatura de 37°C. Foram retiradas amostras de 1 mL do meio ao longo do tempo. De forma a manter constante a razão massa de partículas/volume de meio ao longo do ensaio de liberação foi adicionado 1 mL de meio fresco por cada amostra recolhida.

A concentração de naproxeno foi determinada por espectrofotometria, conforme descrito em 2.2.2.

Os ensaios a pH=1.2 têm a duração de aproximadamente 35 horas e os ensaios a pH=6.8 têm a duração de cerca de 12 horas.

2.2.4. Métodos de Cálculos

Nos perfis de liberação de naproxeno, o ajuste dos valores experimentais para o cálculo do parâmetro n foi feito com um software comercial ScientistTM, da Micromath[®]. Este software tem a capacidade de realizar ajustes não lineares e simultaneamente resolver equações diferenciais. Usou-se o método dos mínimos quadrados e o algoritmo Simplex. Foi necessário usar valores iniciais dos parâmetros para o início do ajuste.

Resultados e Discussão

Neste trabalho foram produzidas micropartículas pelo método de extração/evaporação do solvente. As micropartículas produzidas contêm compostos com diferentes concentrações de modo a estudar o seu efeito plastificante na liberação controlada de Naproxeno. Os compostos em estudo podem ser divididos em três famílias:

- ✓ *Família A*: vitamina K1, α -tocoferol acetato e ácido fólico.
- ✓ *Família B*: trietil citrato, trietil 2-acetilcitrato, tributil citrato, tributil 2-acetilcitrato.
- ✓ *Família C*: isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol.

Para cada família foi realizada a caracterização das micropartículas tal como os respectivos ensaios de liberação.

3.1. Caracterização das micropartículas

As partículas de EC sem fármaco, EC com naproxeno, EC com naproxeno e contendo cada um dos compostos vitamina K1, α -tocoferol acetato, trietil citrato, trietil 2-acetilcitrato, tributil citrato, tributil 2-acetilcitrato, isopropil miristato 1-oleoil-rac-glicerol foram caracterizadas em termos morfológicos, propriedades térmicas e eficiência de encapsulamento.

Os resultados obtidos por família de compostos são apresentados em seguida.

3.1.1. Morfologia e tamanho

Não se observaram, diferenças significativas entre as fotografias com plastificantes em diferentes concentrações. Fotografias EC com naproxeno, EC + vitamina K1 com naproxeno, EC + α -tocoferol acetato com naproxeno, EC + ácido fólico com naproxeno, EC + trietil citrato com naproxeno, EC + trietil 2-acetilcitrato com naproxeno, EC + tributil citrato com naproxeno, EC + tributil 2-acetilcitrato com naproxeno, EC + isopropil miristato com naproxeno e EC + 1-oleoil-rac-glicerol com naproxeno obtidas por microscopia electrónica de varrimento (SEM) encontram-se representadas nas figuras seguintes.

Família A

A família A é constituída por micropartículas com naproxeno e compostos da família das vitaminas (ver estruturas na Tabela 1.1): vitamina K1, α -tocoferol acetato e ácido fólico com concentrações de 5% p/p e 30% p/p.

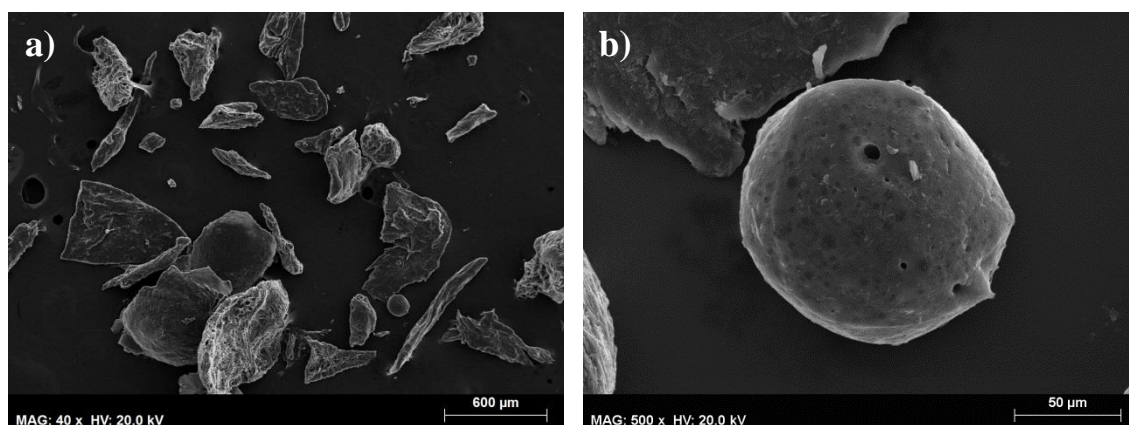


Figura 3.1. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500

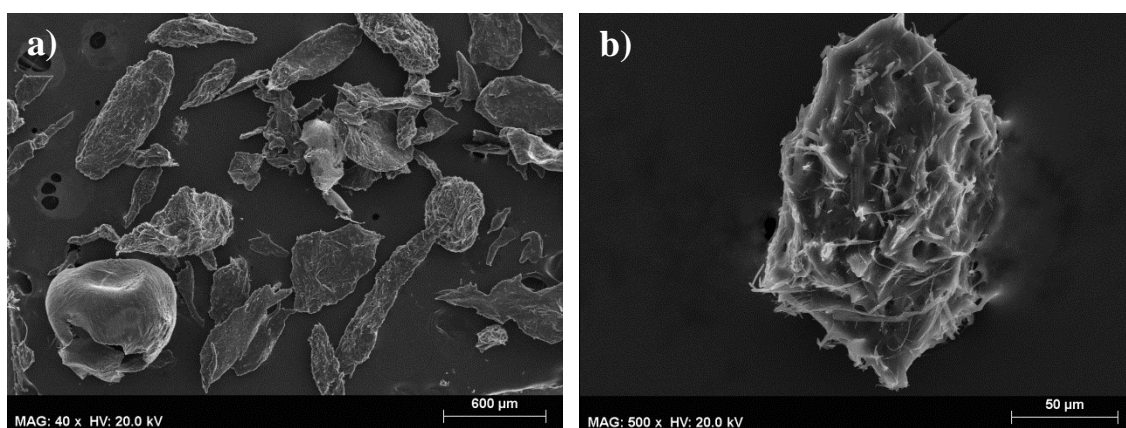


Figura 3.2. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + vitamina K1 com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500

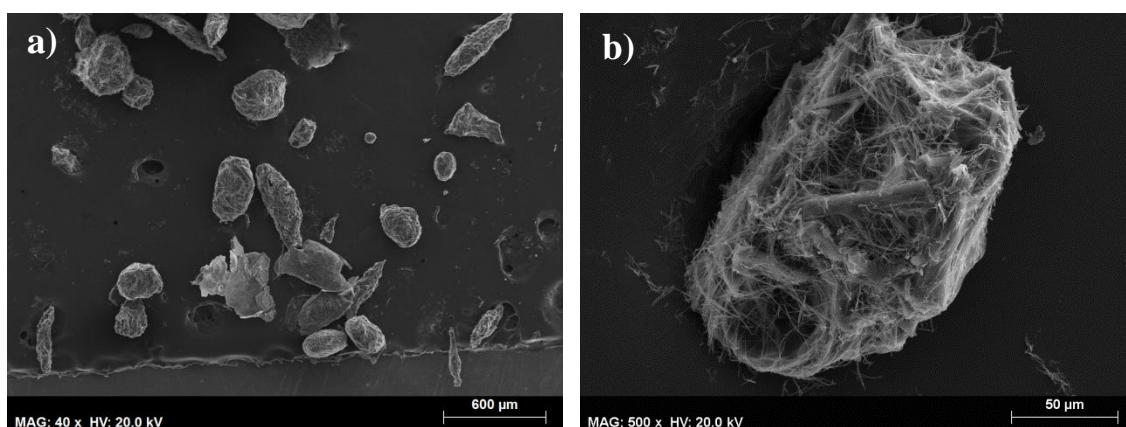


Figura 3.3. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + α -tocoferol acetato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500

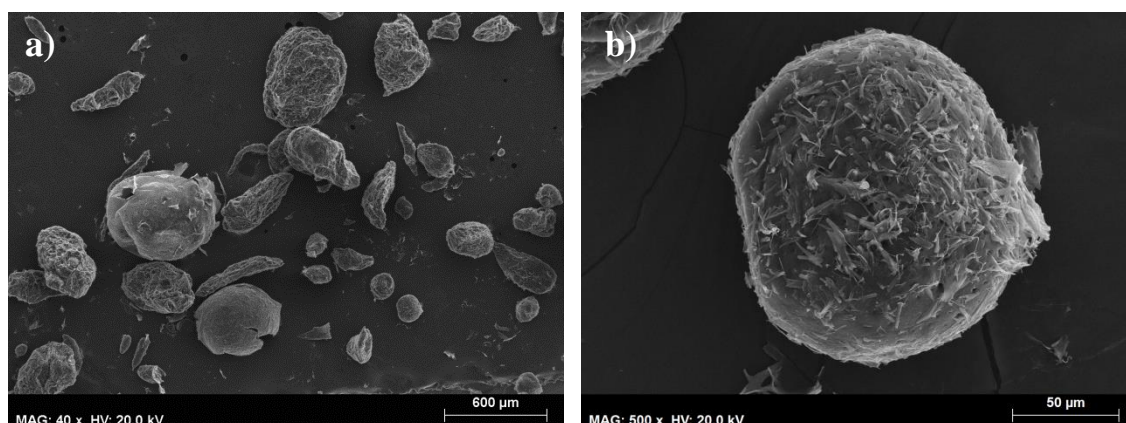


Figura 3.4. – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + ácido fólico com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação: a) X 40; b) X 500

Na figura 3.1. estão representadas as micropartículas com etilcelulose, sendo possível observar-se uma forma um pouco irregular nas partículas apresentadas na fotografia a) e uma superfície lisa contendo poucos poros na fotografia b). Nas figuras 3.2, 3.3 e 3.4 são apresentadas as fotografias obtidas por SEM das micropartículas com os compostos da família A. As partículas com vitamina K1 (Figura a) apresentam uma forma mais irregular que as partículas com α -tocoferol acetato e com ácido fólico. Por sua vez, as partículas desta família A apresentam uma superfície rugosa (Figura b), bastante diferente da superfície das partículas com etilcelulose.

Família B

A família B é constituída por micropartículas com naproxeno e compostos da família dos citratos (ver estruturas na Tabela 1.1): trietil citrato, trietil 2-acetilcitrato, tributil citrato, tributil 2-acetilcitrato, com concentrações de 10% p/p e 30% p/p. As fotografias obtidas por SEM encontram-se representadas nas Figuras 3.5, 3.6, 3.7, 3.8 e 3.9.

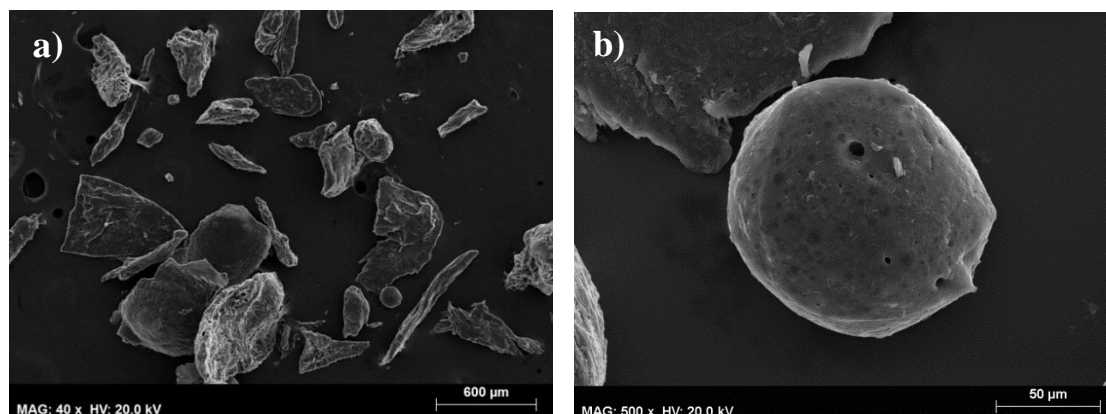


Figura 3.5 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500

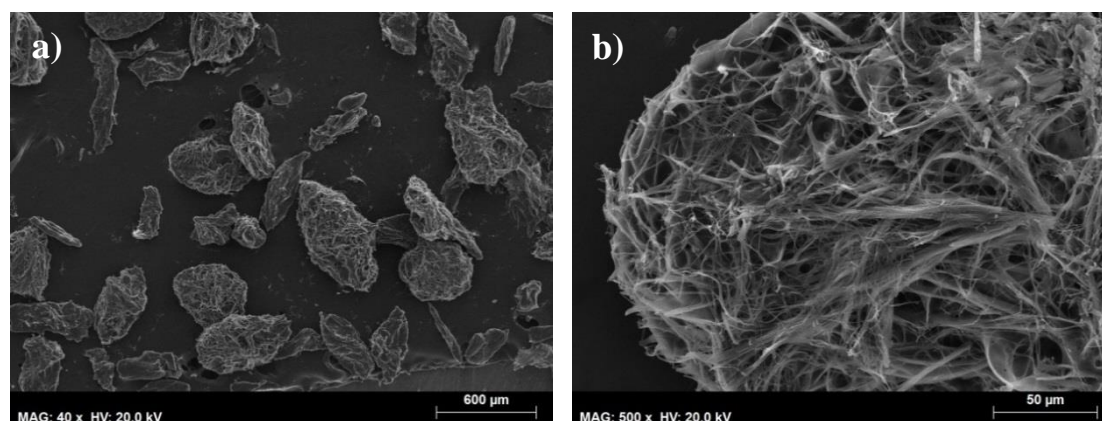


Figura 3.6 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + trietil citrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500

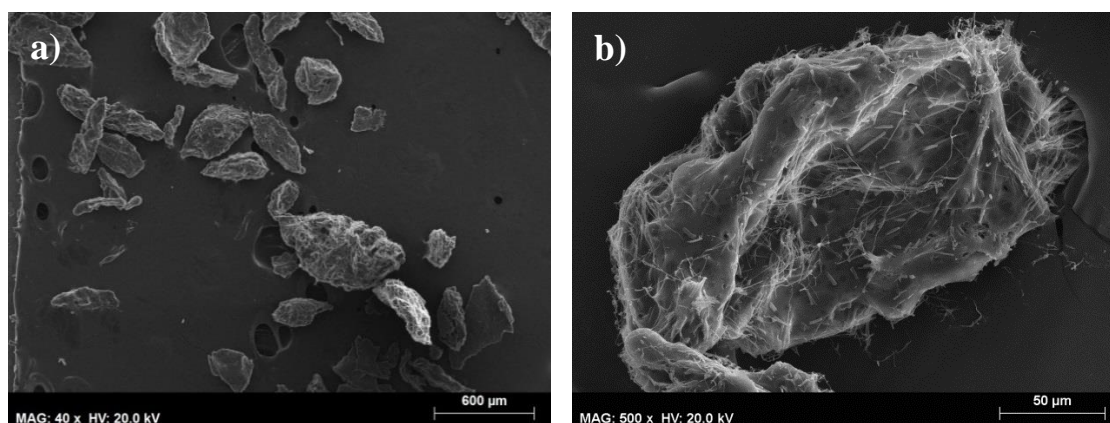


Figura 3.7 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + trietil 2-acetilcitrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500

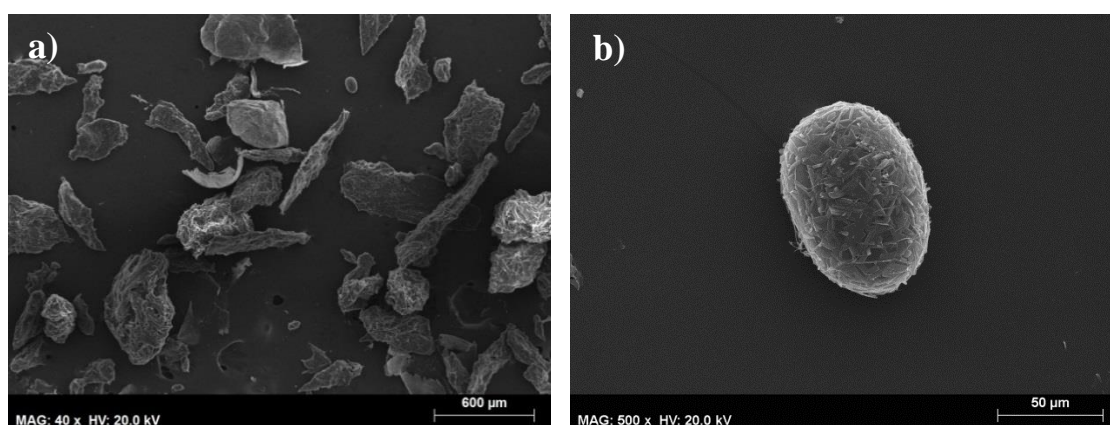


Figura 3.8 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + tributil citrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500

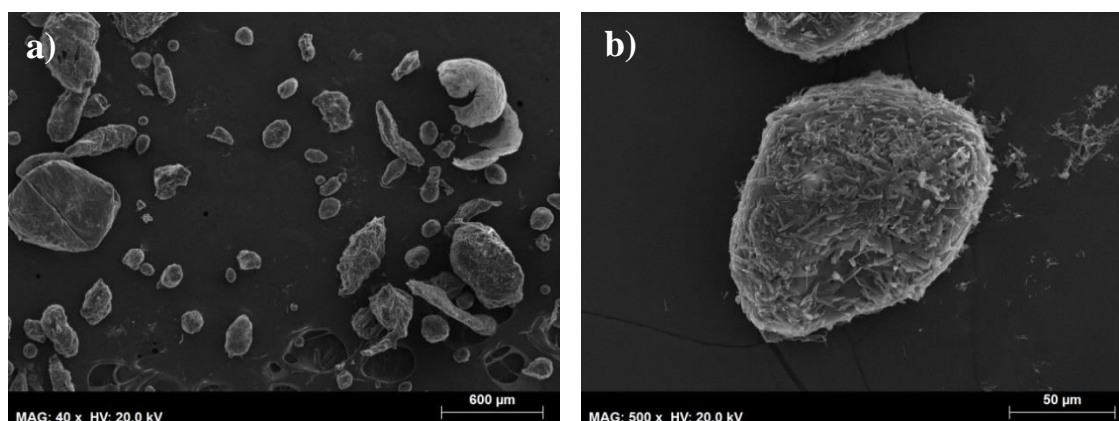


Figura 3.9 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + tributil 2-acetilcitrato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500

Nas figuras 3.6 as 3.9 a) pode observar-se que as micropartículas apresentam uma forma irregular, não esférica e com dimensões variadas, à excepção das micropartículas com o plastificante tributil 2-acetilcitrato que apresentam uma forma esférica, de dimensões menores. Nas fotografias b) obtidas nas análises de SEM das micropartículas da família B, pode-se observar uma superfície idêntica às micropartículas da família A com excepção das micropartículas com tributil citrato e tributil 2-acetilcitrato que apresentam uma superfície menos rugosa.

Família C

A família C é composta por micropartículas com naproxeno e compostos cuja estrutura molecular é linear e apresentam cadeias longas: isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol (ver estruturas na Tabela 1.1). As fotografias obtidas por SEM encontram-se representadas nas Figuras 3.10, 3.11 e 3.12.

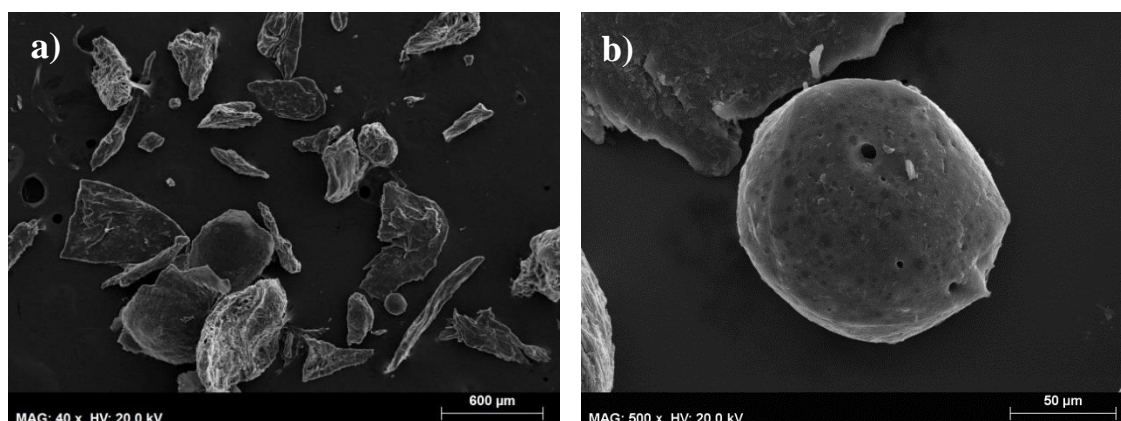


Figura 3.10 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500

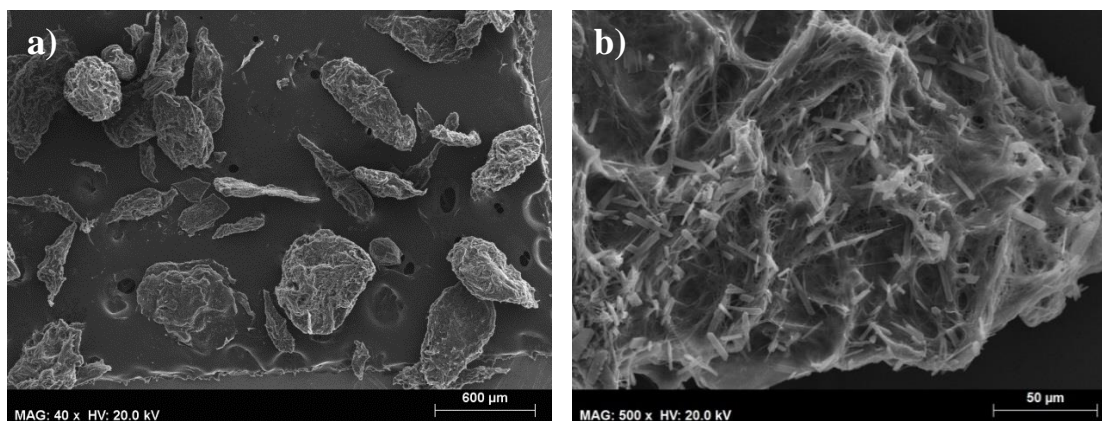


Figura 3.11 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + isopropil miristato com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.

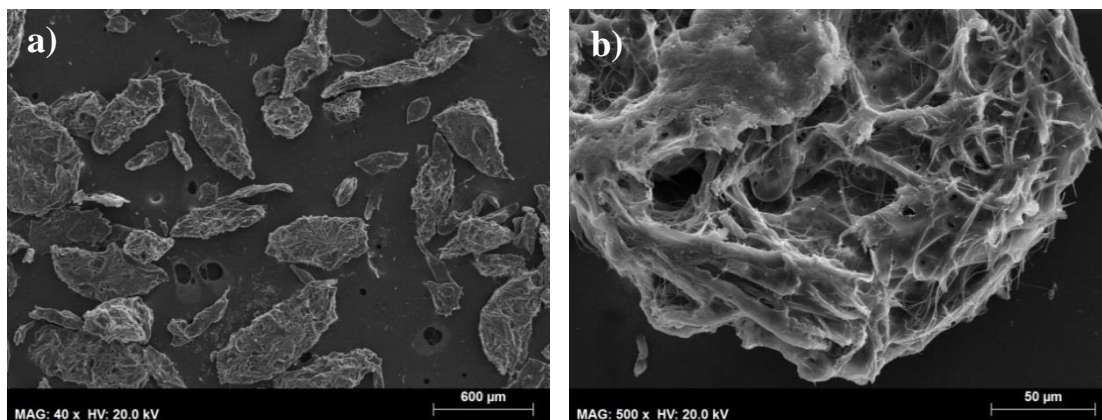


Figura 3.12 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + 1-oleoil-rac-glicerol com naproxeno obtidas por SEM com uma ampliação a) X 40; b) X 500.

A partir da observação das figuras 3.11 e 3.12, pode-se verificar que as partículas da família C têm uma forma irregular, não esférica, e uma superfície rugosa e porosa com uma aparência bastante diferente comparativamente às partículas com etilcelulose apresentadas na figura 3.10.

Dimensão das micropartículas

A partir deste tipo de análise microscópica também é possível determinar um valor aproximado da dimensão das micropartículas. O diâmetro das partículas obtido por análise da distribuição de tamanhos nas fotografias encontra-se na Tabela 3.1:

Tabela 3.1 – Dimensão das micropartículas das Famílias A, B e C.

Micropartículas com naproxeno	Dimensão (µm)	Desvio Padrão
Etilcelulose	400	204
Etilcelulose + Vitamina K1	288	124
Etilcelulose + α -Tocoferol Acetato	280	108
Etilcelulose + Ácido Fólico	200	148
Etilcelulose + Trietil Citrato	467	157
Etilcelulose + Trietil 2-Acetilcitrato	293	154
Etilcelulose + Tributíl Citrato	340	144
Etilcelulose + Tributíl 2-Acetilcitrato	120	119
Etilcelulose + Isopropil Miristato	240	174
Etilcelulose + 1-Oleoíl-rac-glicerol	167	194

Na tabela 3.1. verifica-se que as partículas de EC contendo os compostos das Famílias A, B e C com naproxeno têm uma dimensão muito inferior às partículas de EC, excepto no trietil citrato. Esta diminuição do tamanho das micropartículas pode dever-se a um efeito do plastificante na estabilização da interface água/óleo da microemulsão formada no processo de produção das partículas, o que causa uma diminuição do tamanho das gotas da microemulsão e uma menor coalescência destas durante a agitação. Um grande efeito no tamanho da partícula é observado em micropartículas com tributíl 2-acetilcitrato e com 1-oleoíl-rac-glicerol que apresentam uma dimensão média de 120 µm e 167 µm, respectivamente. Os plastificantes com o grupo acetil parecem ter um maior efeito na diminuição do tamanho o que pode ser explicado por efeito estabilizante da emulsão. Dada a estrutura dos plastificantes, seria de esperar um efeito grande na estabilização da interface, o que pode explicar assim a menor dimensão das partículas. As micropartículas que têm dimensões mais uniformes, tendo em conta o menor valor do desvio padrão obtido, correspondem às micropartículas com o plastificante α -tocoferol acetato.

3.1.2. Propriedades térmicas

A análise das propriedades térmicas das micropartículas por Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) permite determinar a temperatura de transição vítrea (tg) e temperatura de fusão (tm) da etilcelulose, polímero base da matriz das micropartículas, a partir dos termogramas obtidos.

Admitindo que nos termogramas o pico de fusão, que se observa aproximadamente a 125°C, corresponde ao processo de fusão do fármaco modelo, então estamos perante um caso em que a T_m do fármaco é inferior e muito próxima da T_g da etilcelulose, havendo uma sobreposição dos fenómenos de fusão do fármaco e de transição vítrea da etilcelulose. Esta sobreposição de fenómenos implica que os dados de calorimetria obtidos por DSC não são exatos, não podendo assim ser considerados na discussão de resultados. Mesmo assim os valores serão apresentados na tabela 3.2. No ANEXO I foram colocados um termograma representativo de cada família.

Tabela 3.2 – Temperatura de transição vítrea e temperatura de fusão da Etilcelulose nas micropartículas das Famílias A, B e C.

Micropartículas com naproxeno	Tg (°C)	Tm (°C)
Etilcelulose	169,83	128,65
Etilcelulose +10% Vitamina K1	164,96	126,4
Etilcelulose +30% Vitamina K1	166,78	119,5
Etilcelulose +10% α -Tocoferol Acetato	161,55	121,61
Etilcelulose +30% α -Tocoferol Acetato	162,73	121,18
Etilcelulose +5% Ácido Fólico	175,17	126,79
Etilcelulose +10% Ácido Fólico	172,71	125,44
Etilcelulose +10% Trietil Citrato	176,21	126,99
Etilcelulose +30% Trietil Citrato	173,69	127,44
Etilcelulose + 10% Trietil 2-Acetilcitrato	167,4	123,48
Etilcelulose + 30% Trietil 2-Acetilcitrato	152,41	116,85
Etilcelulose + 10% Tributil Citrato	166,49	121,09
Etilcelulose + 30% Tributil Citrato	148,96	110,38
Etilcelulose + 40% Tributil Citrato	151,46	113,02
Etilcelulose + 10% Tributil 2-Acetilcitrato	156,52	121,9
Etilcelulose + 30% Tributil 2-Acetilcitrato	153,12	112,92
Etilcelulose +5% Isopropil Miristato	170,01	123,69
Etilcelulose +10% Isopropil Miristato	165,88	123,41
Etilcelulose +5% 1-Oleoil-rac-glicerol	161,65	122,97
Etilcelulose +10% 1-Oleoil-rac-glicerol	159,85	112,62

3.1.3. Eficiência de encapsulamento

A percentagem de naproxeno nas partículas e a eficiência de encapsulamento determinadas recorrendo a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) são apresentados na tabela seguinte.

Tabela 3.3 – Valores de carregamento de naproxeno e da eficiência de encapsulamento das micropartículas das Famílias A, B e C.

Micropartículas com Naproxeno	Carregamento de Naproxeno (%) (mg/mg)	Eficiência de encapsulamento (%)
Etilcelulose	18,5	64,6
Etilcelulose + [Vitamina K1]=10%	17,2	63,7
Etilcelulose + [Vitamina K1]=30%	16,2	70,3
Etilcelulose + [α -Tocoferol acetato]=10%	17,5	66,7
Etilcelulose + [α -Tocoferol acetato]=30%	15,6	67
Etilcelulose + [Ácido Fólico]=5 %	22,5	81,4
Etilcelulose + [Ácido Fólico]=10 %	18,1	67,9
Etilcelulose + [Trietil Citrato]=10 %	18,9	69,2
Etilcelulose + [Trietil Citrato]=30 %	16,8	66,7
Etilcelulose + [Trietil 2-acetilcitrato]=10 %	18,1	67
Etilcelulose + [Trietil 2-acetilcitrato]=30 %	17	68,8
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=10 %	20,1	74,4
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=30 %	16,5	67,8
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=40 %	15,8	68
Etilcelulose + [Tributil-2-acetilcitrato]=10 %	16,4	61,3
Etilcelulose + [Tributil-2-acetilcitrato]=30 %	16,4	68,4
Etilcelulose + [Isopropil Miristate]=5 %	21,8	77,9
Etilcelulose + [Isopropil Miristate]=10 %	19	69,2
Etilcelulose + [1-Oleoil-rac-glicerol]=5 %	20,3	73,2
Etilcelulose + [1-Oleoil-rac-glicerol]=10 %	14,1	52,1

Os valores da percentagem de carregamento de naproxeno nas micropartículas foram calculados pelas equações 2.1 e 2.2, considerando a quantidade de fármaco inserida quando estas foram produzidas. Observando a tabela 3.3., verifica-se que os valores da percentagem de

carregamento de naproxeno das partículas da família A variam entre 15,6% e 22,5%, da família B variam entre 13,5% e 20,1% e da família C variam entre 14,1% e 21,8%, apresentando em geral valores de 17%. Relativamente à eficiência de encapsulamento, os valores variam entre 63,7% e 81,4% para a família A, 59,5% e 74,4% para a família B e 52,1% e 77,9% para família C, apresentando no geral valores próximos de 70%. Relativamente à % de eficiência de encapsulamento nas micropartículas com plastificantes apresentam valores ligeiramente maiores do que os valores de partículas contendo apenas etilcelulose, excepto para a vitamina K1 10% p/p e tributil 2-acetilcitrato 10% p/p e 1-oleoil-rac-glicerol 10% p/p, o que pode dever-se ao efeito estabilizante destes plastificantes. A estabilização da interface na microemulsão dificulta a perda de fármaco para a fase aquosa, aumentando assim a eficiência de encapsulação. No caso das excepções apresentadas, este efeito não se verifica quando a concentração é de 10% p/p, o que pode dever-se à baixa concentração de plastificante.

3.2. Ensaio de Libertação

Os ensaios de libertação foram realizados em dois meios com pH diferentes, de modo a simular as condições gástricas (pH=1.2) e as condições no intestino (pH=6.8). Nas figuras seguintes podem-se observar os perfis de libertação obtidos, sendo de notar que a escala dos gráficos dos dois meios distintos é diferente pelo facto de a pH=1.2 os valores de fracção libertada serem muito inferiores aos valores obtidos para pH=6.8.

A concentração de naproxeno libertada nas várias amostras retiradas durante o tempo de ensaio foi determinada por espectrofotometria e elaborados gráficos com a percentagem de fracção de naproxeno libertada ao longo do tempo. Os parâmetros analisados a partir dos resultados obtidos nos ensaios de libertação são a velocidade inicial de libertação e a quantidade de máxima de fármaco libertado para cada plastificante.

3.2.1. Família A

pH=1.2

Os perfis de libertação de naproxeno a pH 1.2 das micropartículas de etilcelulose e de etilcelulose com os compostos vitamina K1 a 10 e 30% p/p, α -tocoferol acetato a 10 e 30% p/p e ácido fólico a 5% e 10 % p/p encontram-se apresentados nas Figuras 3.13, 3.14 e 3.15.

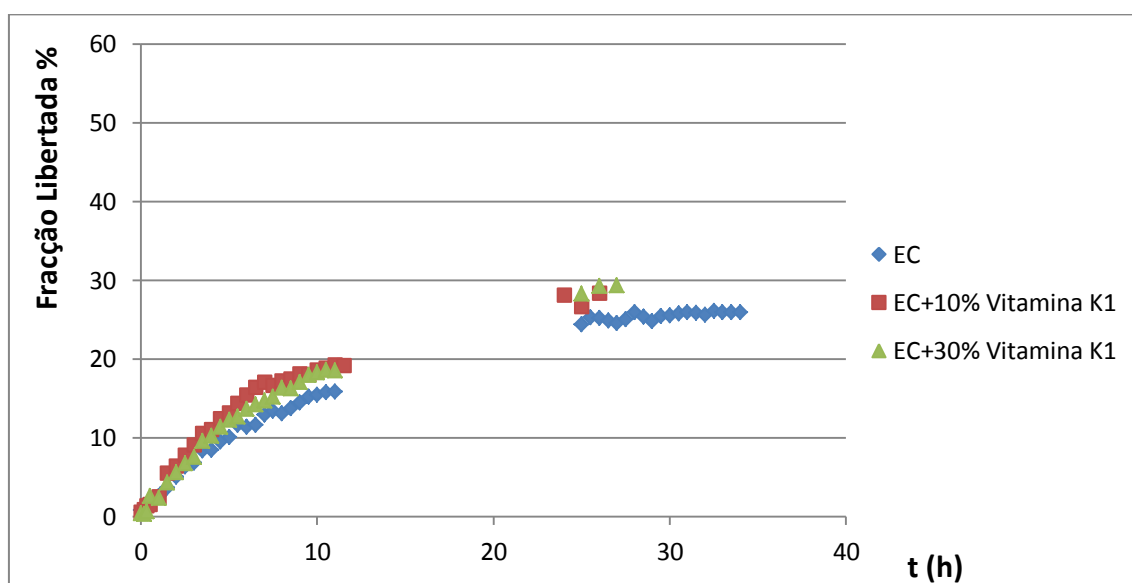


Figura 3.13 – Perfil de Libertação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com vitamina k1 a pH=1.2.

Os resultados obtidos no ensaio de liberação das partículas com etilcelulose e vitamina K1 nas duas concentrações estudadas encontram-se representadas na Figura 3.13 e na Tabela 3.4. Pode-se observar que a velocidade de liberação é superior nas partículas contendo vitamina K1 sendo a diferença de velocidades pequena. Por sua vez o valor da percentagem máxima de fármaco libertado das partículas de etilcelulose é de 25% enquanto com vitamina K1 é aproximadamente 30%. Pode-se, assim, concluir que a utilização da vitamina K1 como plastificante aumenta ligeiramente a velocidade de liberação e consequente absorção de fármaco no estômago. A concentração de vitamina K1 não demonstra nenhum efeito na velocidade e nos valores máximos libertados.

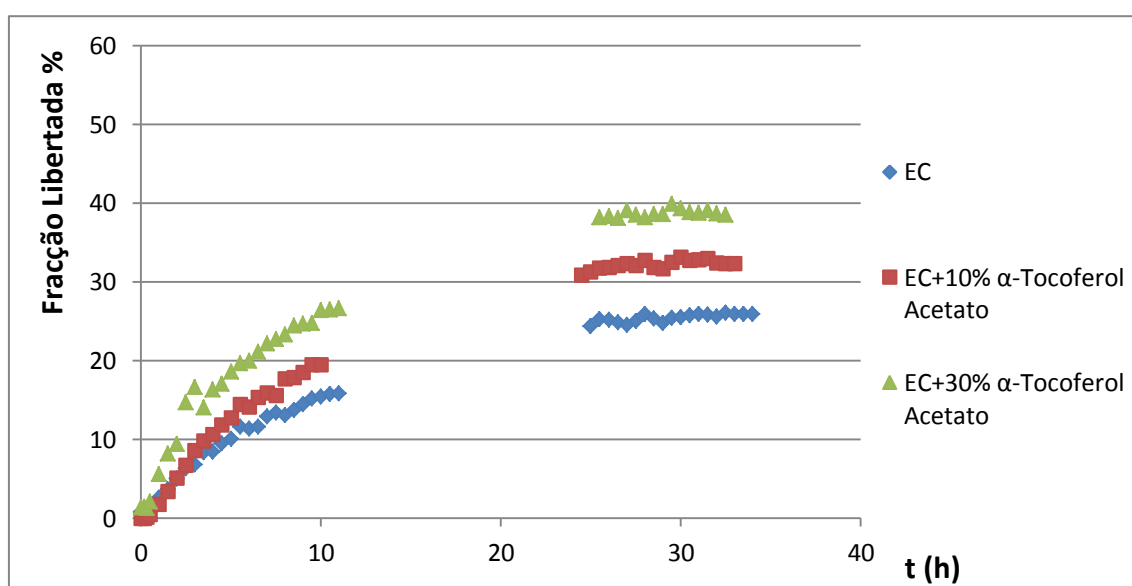


Figura 3.14 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com α -tocoferol acetato a pH=1.2.

As micropartículas de EC + 10% de α -tocoferol acetato têm uma velocidade de liberação superior à velocidade de liberação de partículas só com EC (Figura 3.14 e na Tabela 3.4). Por sua vez, como era esperado, com o aumento da concentração de plastificante, aumenta a velocidade de liberação. Relativamente ao valor da % de liberação máxima verifica-se que as micropartículas com etilcelulose apresentam um valor de 25% enquanto as partículas com 10% e 30% de α -tocoferol acetato apresentam valores de 33 e 39%, respectivamente, podendo concluir-se que a utilização de α -tocoferol acetato em micropartículas de etilcelulose aumenta a eficácia da formulação ao permitir uma maior liberação e utilização do fármaco.

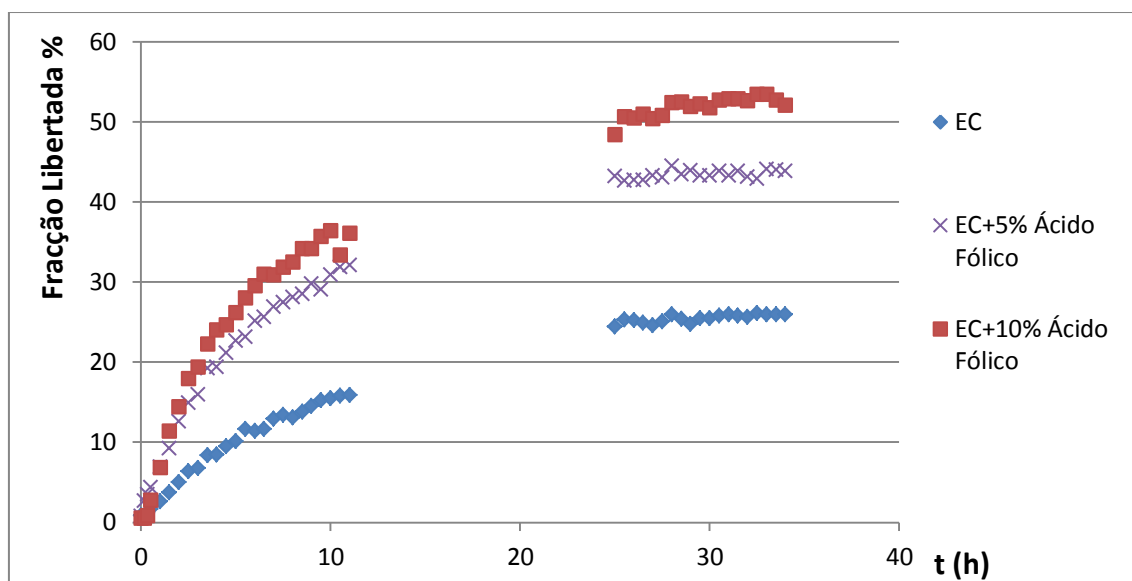


Figura 3.15 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com ácido Fólico a pH=1.2.

Na Figura 3.15 e na Tabela 3.4 pode-se observar um efeito plastificante bastante notório nas partículas EC com uma concentração de 5% e 10% de ácido fólico, pois com o aumento da concentração era esperado um aumento do efeito de plastificante, tanto na velocidade de liberação de naproxeno como no equilíbrio máximo libertado. Verifica-se que nas micropartículas EC+10% de ácido fólico o equilíbrio máximo libertado é superior ao valor de equilíbrio máximo libertado nas partículas EC+5% de ácido fólico sendo aproximadamente, 53% e 44%, respectivamente.

pH= 6.8

Os perfis de liberação de naproxeno a pH=6.8 das micropartículas de etilcelulose e de etilcelulose com os plastificantes vitamina k1 a 10 e 30% p/p, α -tocoferol acetato a 10 e 30% p/p e ácido fólico a 5% e 10 % p/p encontram-se apresentados nos gráficos 3.16, 3.17 e 3.18.

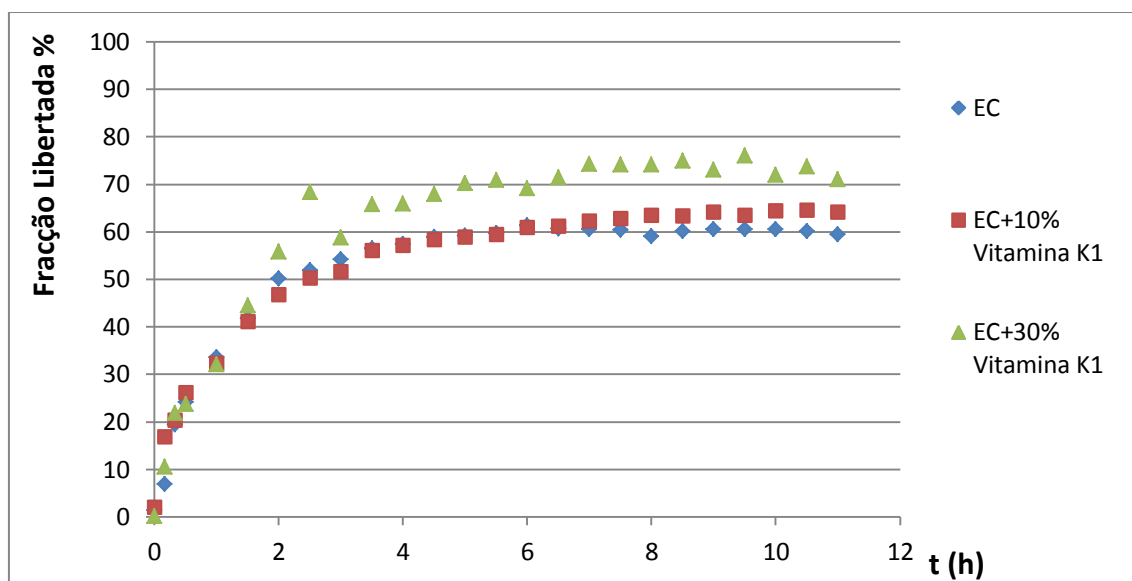


Figura 3.16 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com vitamina k1 a pH=6.8.

Analisando os valores representados na Figura 3.16 e na Tabela 3.4 pode-se verificar que as micropartículas com EC + vitamina K1 têm um perfil idêntico às partículas com EC sendo que a partir das 2h a velocidade de liberação de partículas com 30% p/p de vitamina k1 aumenta repentinamente. As partículas sem plastificante e com 10% de vitamina K1 também apresentam valores máximos de liberação semelhantes. As partículas com 30% de vitamina K1 apresentam um valor máximo de liberação de 70 a 75%, valor atingido num período de 6h a horas, isto é dentro do tempo de residência (6-12) de formulações orais no intestino. Estes resultados permitem concluir que utilização de 30% p/p de vitamina K1 permite um melhor aproveitamento do naproxeno contido na formulação.

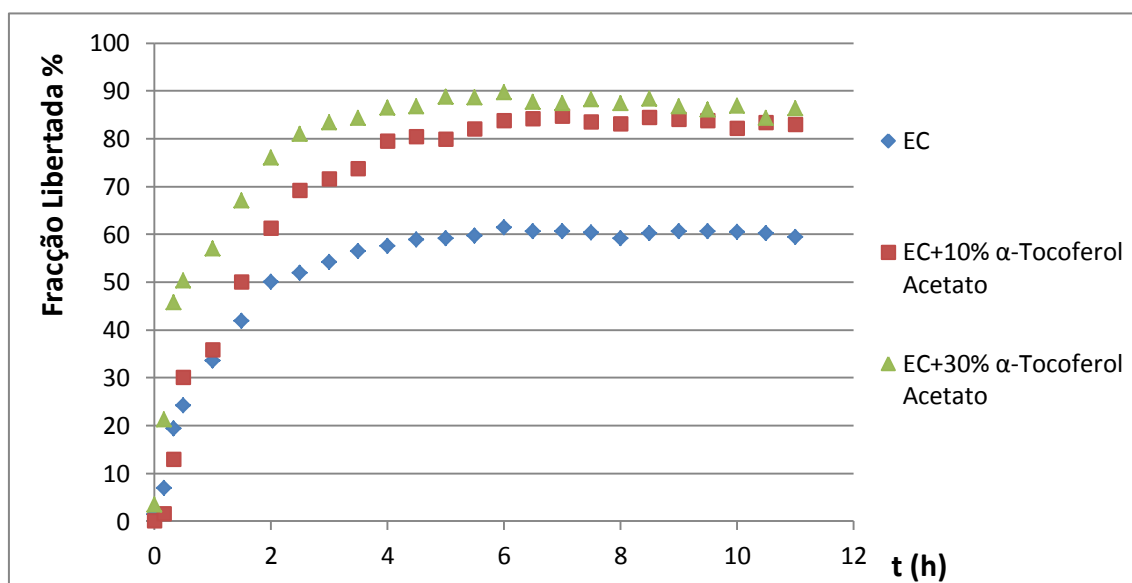


Figura 3.17 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com α -tocoferol acetato a pH=6.8.

Nos perfis de liberação dos ensaios a pH 6.8, as partículas com o composto α -tocoferol acetato apresentam quer uma velocidade de liberação, quer uma percentagem de liberação máxima maior do que as partículas contendo só etilcelulose (ver Figura 3.17 e Tabela 3.4). Ao aumentar a concentração de α -tocoferol acetato de 10% para 30% p/p, verifica-se um aumento da velocidade de liberação inicial sendo, no entanto, o valor máximo libertado idêntico. Pode-se, assim, concluir que a presença de α -tocoferol acetato nas partículas de etilcelulose permite uma maior liberação e consequente absorção de fármaco no intestino, podendo atingir o valor de 85%. No entanto a formulação com 10% p/p é a mais adequada pois permite obter resultados semelhantes com menores quantidades de plastificante.

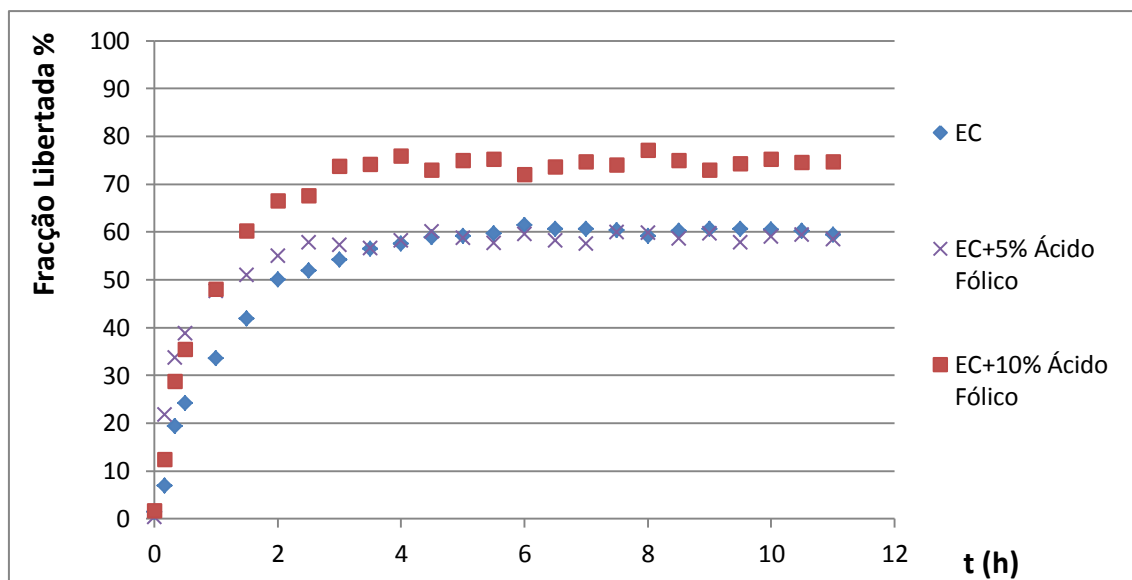


Figura 3.18 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com ácido fólico a pH=6.8.

Na Figura 3.18 e na Tabela 3.4 observa-se que as partículas de EC+ 5% de ácido fólico não têm um efeito de plastificante relevante em termos de percentagem de naproxeno libertado no equilíbrio, no entanto em termos de velocidade inicial de liberação tem um pequeno efeito significativo. As micropartículas de EC+10% ácido fólico têm tanto uma velocidade de liberação, como o valor de equilíbrio máximo libertado superior aos valores obtidos no perfil de liberação das partículas com EC. É de notar que a percentagem de valor de naproxeno libertado é superior a pH 6.8 permitindo assim uma maior absorção nos intestinos.

A velocidade inicial de liberação de naproxeno das micropartículas foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Velocidade de Liberação} = \frac{\% \text{ libertada } (2h) - \% \text{ libertada } (1h)}{2h - 1h} \quad (3.1)$$

E os valores encontram-se na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Velocidade inicial de liberação de naproxeno das micropartículas com plastificantes da Família A.

Micropartícula com naproxeno	pH=1.2		pH=6.8	
	Velocidade de Liberação (% h ⁻¹)	% no equilíbrio	Velocidade de Liberação (% h ⁻¹)	% no equilíbrio
Etilcelulose	2,4	26	16,6	60
Etilcelulose + 10% Vitamina K1	4,0	28	14,4	63
Etilcelulose + 30% Vitamina K1	3,3	29	23,7	75
Etilcelulose + 10% α -Tocoferol Acetato	3,4	33	19,1	83
Etilcelulose + 30% α -Tocoferol Acetato	3,8	39	19,0	88
Etilcelulose + 5% Ácido Fólico	5,7	44	7,4	59
Etilcelulose + 10% Ácido Fólico	7,7	53	18,6	75

Com o intuito de se comparar as diferenças na morfologia das micropartículas antes e após os ensaios de liberação de naproxeno, realizou-se a análise de SEM às micropartículas após o ensaio decorrer. Tendo em conta que não se verificou uma diferença notória entre as imagens dos vários plastificantes após o ensaio, são apresentadas apenas algumas imagens a título exemplificativo.

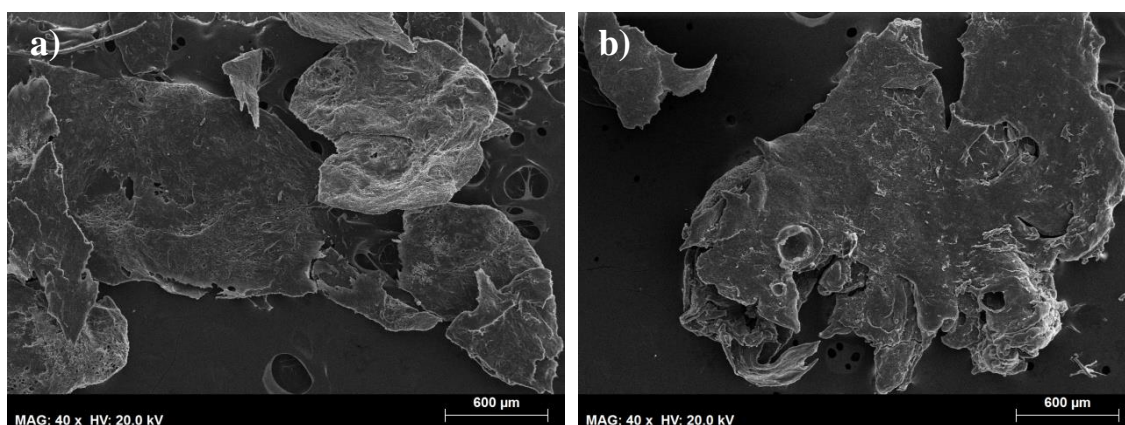


Figura 3.19 – Fotografia de micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtidas por SEM após o ensaio de liberação a: a) pH=1.2 (40X); b) pH=6.8 (40X).

Após os ensaios de liberação, as micropartículas de etilcelulose decompuseram-se formando um agregado, observando-se assim um gênero de placas com uma quantidade de poros superior ao observado nas micropartículas antes de ocorrer o ensaio de liberação (Figura 3.1).

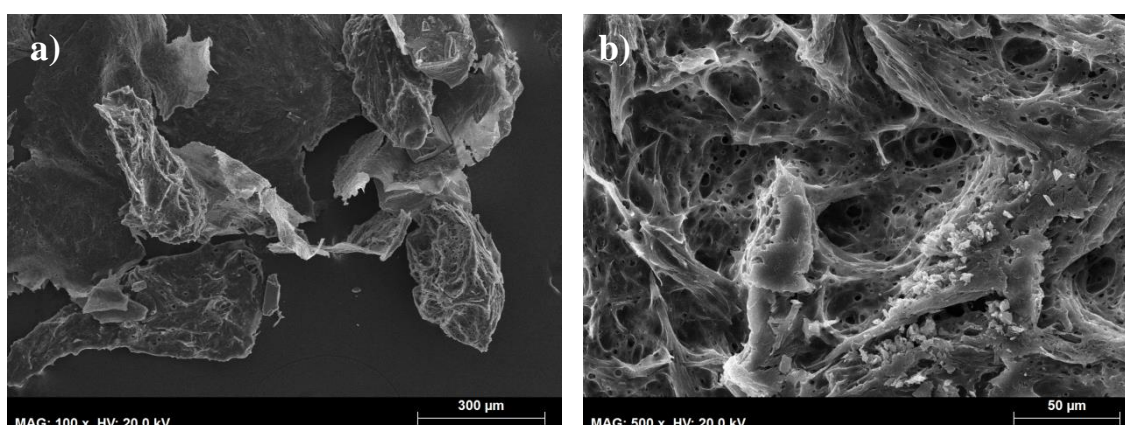


Figura 3.20 – Fotografias de micropartículas de etilcelulose + tributil citrato com naproxeno obtidas por SEM após o ensaio de liberação a: a) pH=1.2 (100X); b) pH=6.8 (500x).

Como foi referido, a título exemplificativo, na figura 3.20 estão representados as imagens das micropartículas constituídas com etilcelulose e tributil citrato de modo a poder se verificar as diferenças na morfologia ocorridas após a liberação de fármaco. As figuras revelam também um agregado tal como na figura 3.19 e uma superfície bastante mais porosa comparativamente às partículas antes de ocorrer o ensaio de liberação (Figura 3.8).

3.2.2. Família B

pH=1.2

Os perfis de liberação de naproxeno a pH=1.2 das micropartículas de etilcelulose e de etilcelulose mais compostos: trietil citrato, trietil 2-acetilcitrato, tributil citrato, tributil 2-acetilcitrato, com diferentes concentrações encontram-se representados nas Figuras 3.21, 3.22, 3.23 e 3.24 e os valores de velocidade inicial e % máxima de liberação calculados na Tabela 3.5.

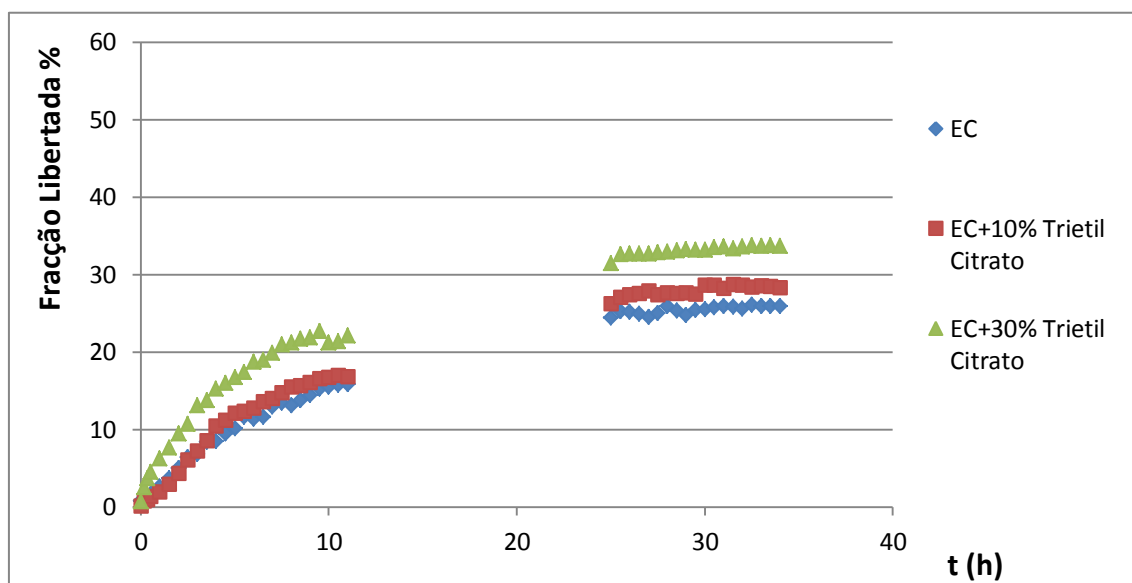


Figura 3.21 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil citrato a pH 1.2.

As partículas com EC+10% trietil citrato têm a mesma velocidade de liberação inicial que as micropartículas de EC, no entanto no decorrer do ensaio obtêm um equilíbrio máximo libertado cerca de 3% superior. Como era esperado, com o aumento da concentração, aumenta o efeito do plastificante, obtendo-se no caso de 30% de trietil citrato uma maior velocidade de liberação e um valor máximo de liberação de 33%.

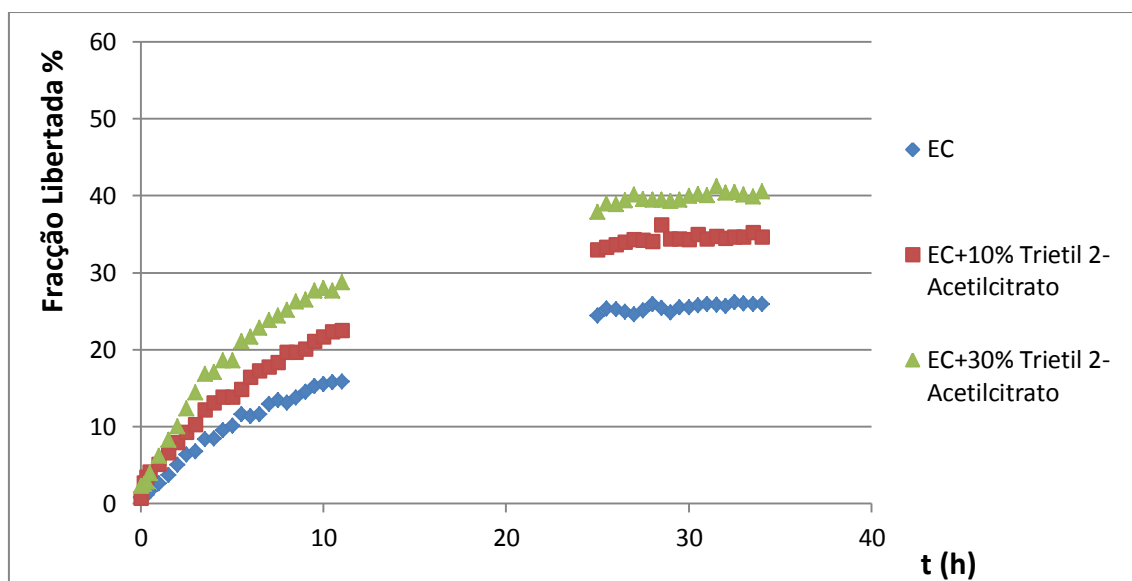


Figura 3.22 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil 2-acetilcitrate a pH 1.2.

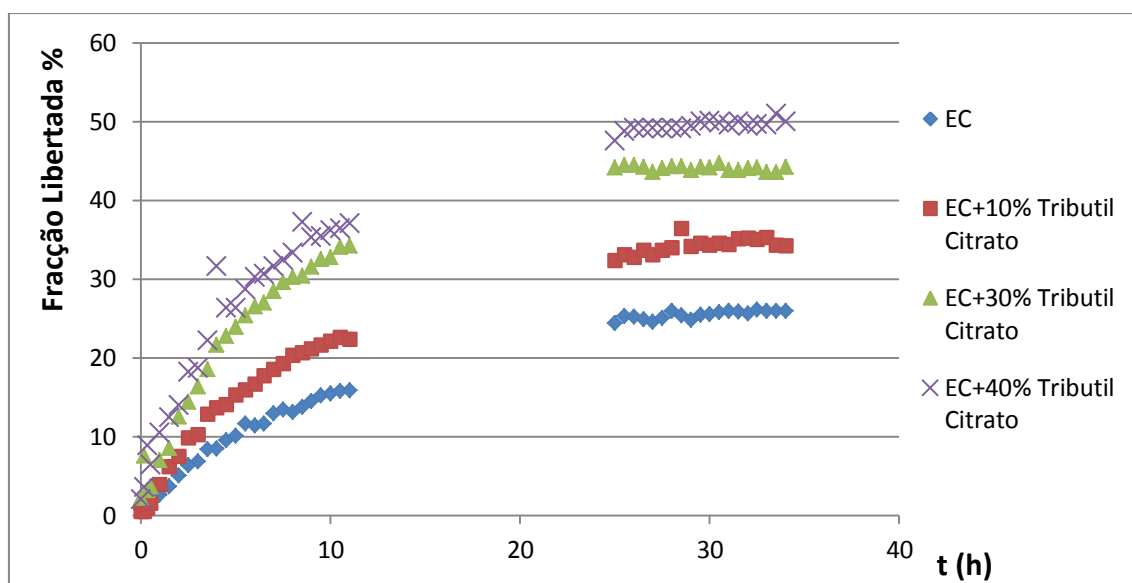


Figura 3.23 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil citrato a pH 1.2.

Nas Figuras 3.22 e 3.23 e na Tabela 3.5, pode-se observar que, quer a velocidade de liberação quer a % de liberação máxima de fármaco aumentam com a presença dos compostos trietil-2-acetil citrato e tributil citrato e que este aumento é tanto maior quanto maior a concentração do composto.

A % de liberação entre as 4 – 6 horas (tempo de residência no estômago) em partículas de etilcelulose é de 10% enquanto em partículas com 30% p/p de qualquer um dos compostos em análise os valores atingem cerca de 20%, significando que se consegue o dobro da

libertação de fármaco no estômago quando se utilizam estes compostos, que mostram actuar como plastificantes.

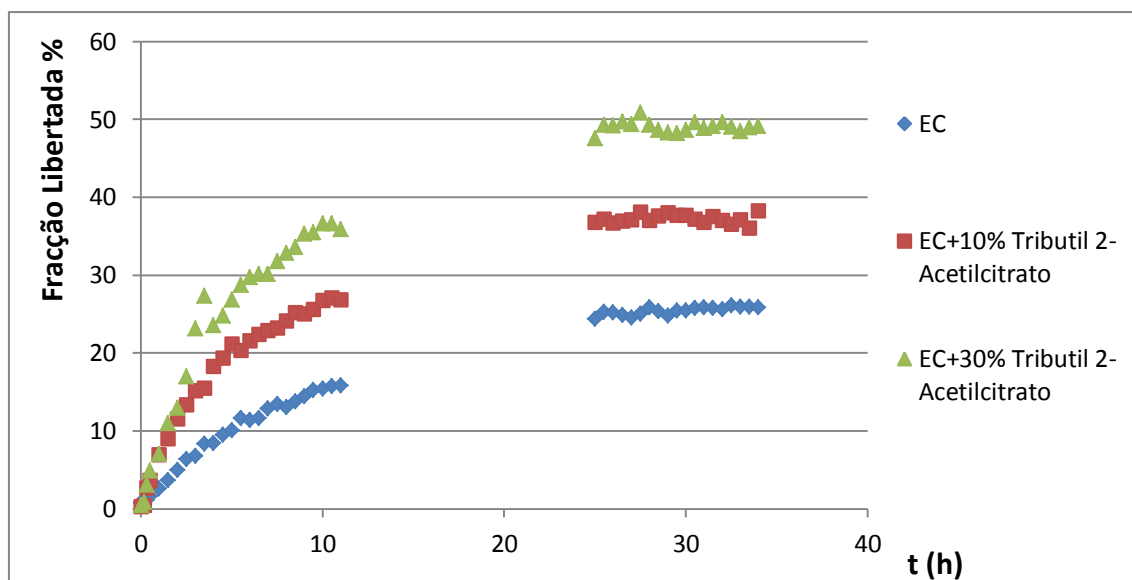


Figura 3.24 – Perfil de Libertação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil 2-acetilcitrate a pH 1.2.

Nas Figuras 3.24 e na Tabela 3.5, pode-se observar que, quer a velocidade de liberação quer a % de liberação máxima de fármaco aumentam com a presença do composto tributil 2-acetilcitrate e que este aumento é tanto maior quanto maior a concentração até uma concentração de 30% p/p. A % de liberação entre as 4 – 6 horas (tempo de residência no estômago) nas partículas de etilcelulose é de 10% enquanto que em partículas com 10% e 30% p/p de tributil 2-acetilcitrate é de cerca de 20% e 30%, respectivamente, significando que a quantidade de fármaco libertada no estômago é o dobro ou o triplo.

pH= 6.8

Os perfis de liberação de naproxeno a pH=6.8 das micropartículas de etilcelulose e de etilcelulose mais compostos: trietil citrato, trietil 2-acetilcitrate, tributil citrato, tributil 2-acetilcitrate com diferentes concentrações encontram-se representados nas Figuras 3.25, 3.26, 3.27 e 3.28 e os valores de velocidade inicial e % máxima de liberação calculados na Tabela 3.5.

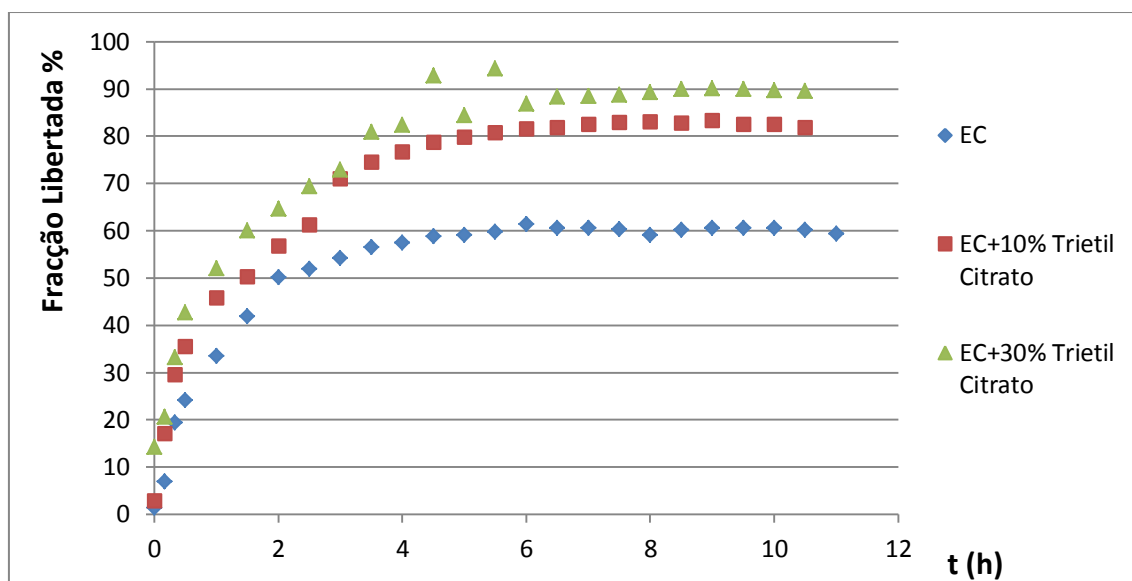


Figura 3.25 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil citrato a pH=6.8.

Na Figura 3.25 e na Tabela 3.5 verifica-se que há efeito de plastificante comparativamente às partículas com EC, no entanto com o aumento das concentrações a diferença é mínima. O valor máximo de naproxeno libertado das partículas com uma concentração de 10% e 30% de trietil citrato é de 83% e 90% respectivamente.

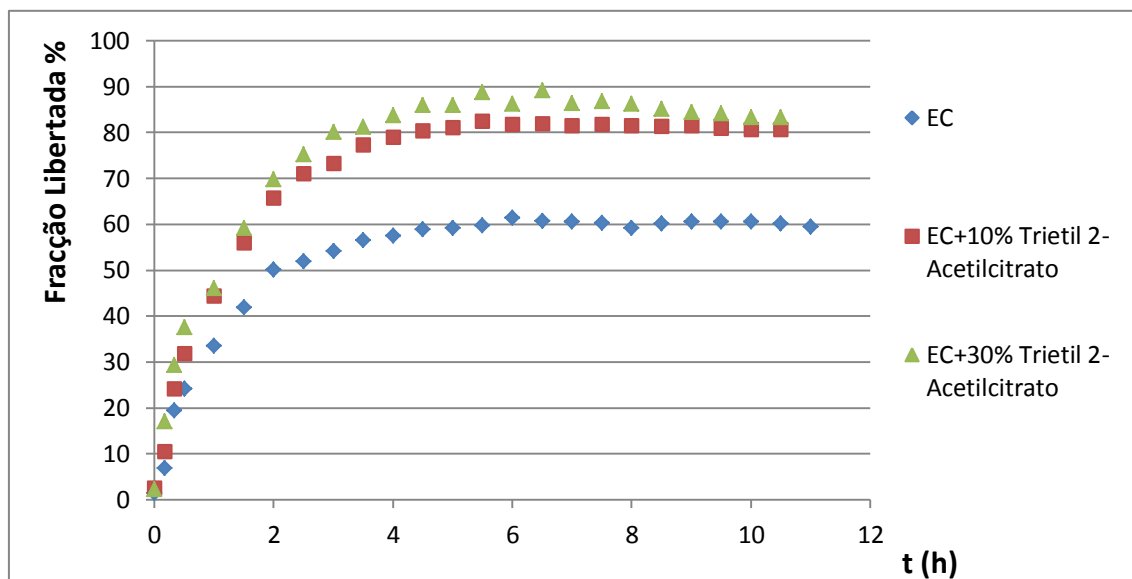


Figura 3.26. - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com trietil 2-acetilcitrato a pH=6.8.

Os resultados dos perfis de liberação do composto trietil 2-acetilcitrato representados na Figura 3.26 e na Tabela 3.5 mostram o efeito do plastificante, no entanto com o aumento da

concentração não é notório um aumento significativo do valor da percentagem de liberação de naproxeno. Nas partículas com 10% e 30% de trietil 2-acetilcitrate, o valor da percentagem de liberação de naproxeno é 81% e 86%, respectivamente.

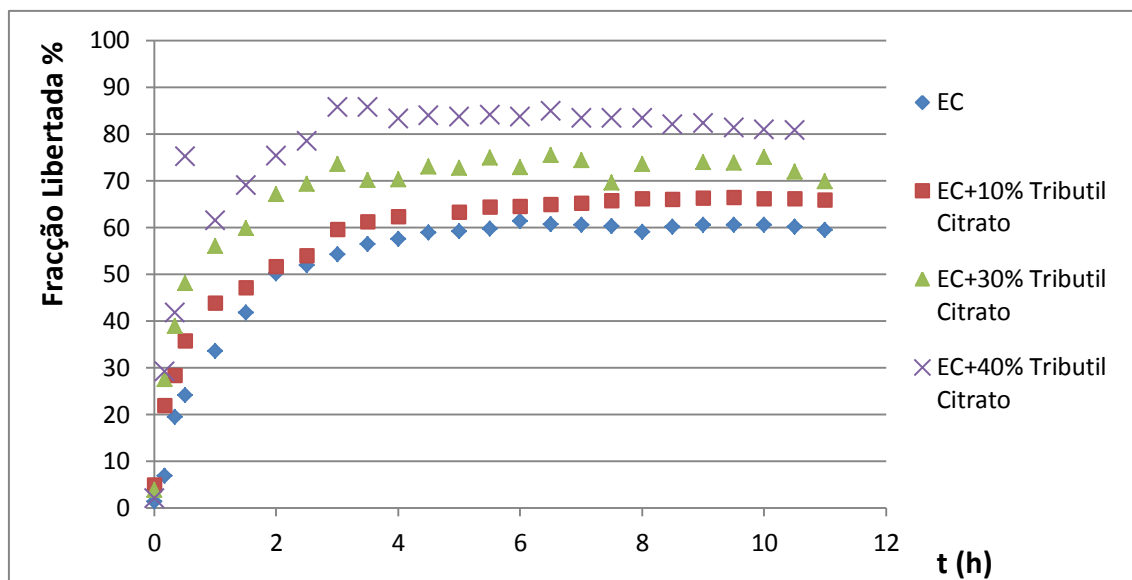


Figura 3.27. - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil citrato a pH=6.8.

Na Figura 3.27 verifica-se um bom efeito de plastificante, em que as micropartículas com EC+40% tributil citrato libertam cerca de 20% mais naproxeno que as partículas com EC. Os valores das percentagens de liberação de naproxeno nas partículas com 10%, 30% e 40% de tributil citrato são, respectivamente, 66%, 74% e 83%.

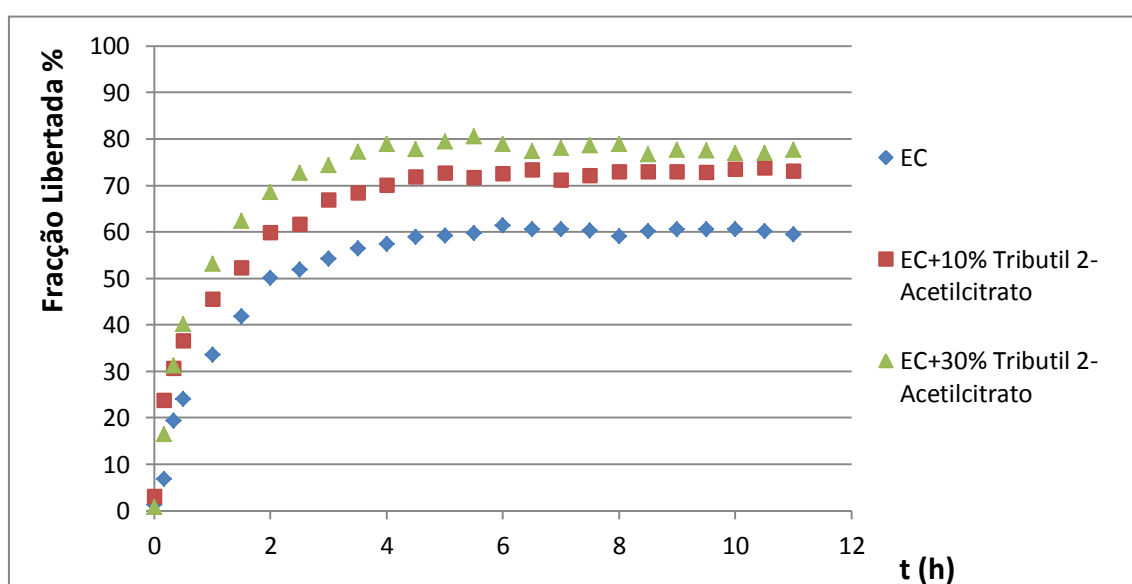


Figura 3.28 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com tributil 2-acetilcitrato a pH=6.8.

Na Figura 3.28 e na Tabela 3.5, os resultados obtidos foram coerentes com os resultados esperados, tendo em conta que com a adição de plastificante o valor da percentagem de naproxeno libertado é superior ao das partículas de etilcelulose. Por sua vez é pouco notório um efeito de plastificante com o aumento da concentração.

A velocidade inicial de libertação de naproxeno das micropartículas foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Velocidade de Liberação} = \frac{\% \text{ libertada } (2h) - \% \text{ libertada } (1h)}{2h - 1h}$$

Tabela 3.5 – Velocidade inicial de libertação de naproxeno das micropartículas com plastificantes da Família B.

Micropartícula com naproxeno	pH=1.2		pH=6.8	
	Velocidade de Libertação (% h ⁻¹)	% no equilíbrio	Velocidade de Libertação (% h ⁻¹)	% no equilíbrio
Etilcelulose	2,4	26	16,6	60
Etilcelulose + 10% Trietil Citrato	2,4	28	11,0	83
Etilcelulose + 30% Trietil Citrato	3,2	34	12,6	90
Etilcelulose + 10% Trietil 2-Acetilcitrato	2,8	35	23,7	81
Etilcelulose + 30% Trietil 2-Acetilcitrato	3,8	40	21,2	86
Etilcelulose + 10% Tributil Citrato	3,6	35	7,8	66
Etilcelulose + 30% Tributil Citrato	5,5	44	11,1	74
Etilcelulose + 40% Tributil Citrato	3,5	50	13,8	83
Etilcelulose + 10% Tributil 2-Acetilcitrato	4,6	38	14,3	73
Etilcelulose + 30% Tributil 2-Acetilcitrato	5,9	49	15,4	79

3.2.3. Família C

pH=1.2

Os perfis de libertação de naproxeno a pH=1.2 das micropartículas de etilcelulose e de etilcelulose com os compostos isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol a 5% e 10 %p/p encontram-se apresentados nas Figuras 3.29 e 3.30 e os valores de velocidade inicial e % máxima de libertação calculados na Tabela 3.6.

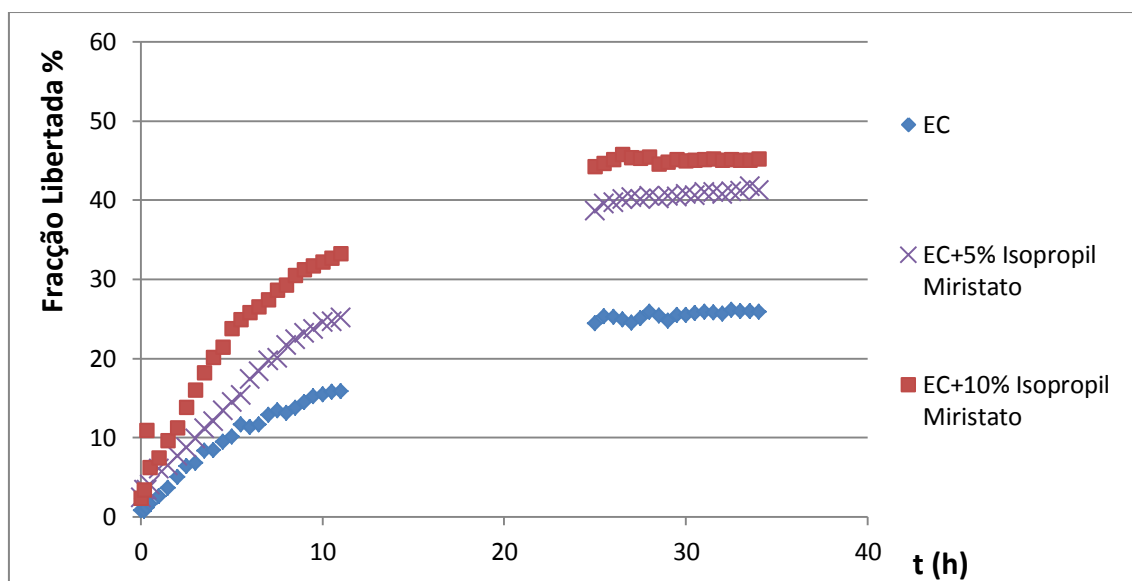


Figura 3.29 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com isopropil miristato a pH 1.2.

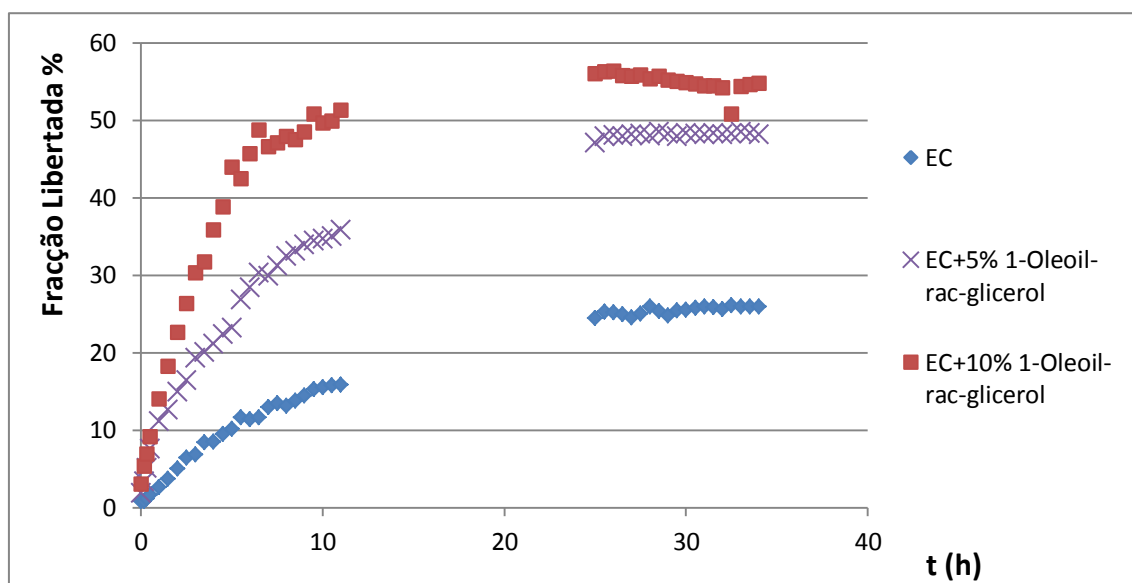


Figura 3.30 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com 1-oleoil-rac-glicerol a pH 1.2.

Em ambas as Figuras, 3.29 e 3.30, e recorrendo à Tabela 3.6 pode-se observar nos perfis de liberação das partículas, um efeito de plastificante notório com uma percentagem de liberação de fármaco de cerca 48% e 55% para micropartículas com uma concentração de 5 e 10% respectivamente.

A % de liberação às 4 – 6 horas (tempo de residência no estômago) em partículas de etilcelulose é de 10% enquanto em partículas com 5% e 10% p/p de 1-oleoil-rac-glicerol é de cerca de 25% e 40%, respectivamente.

pH= 6.8

Os perfis de liberação de naproxeno a pH=6.8 das micropartículas de etilcelulose e de etilcelulose + compostos: isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol com diferentes concentrações encontram-se representados nas Figuras 3.31 e 3.32 e os valores de velocidade inicial e % máxima de liberação calculados na Tabela 3.6.

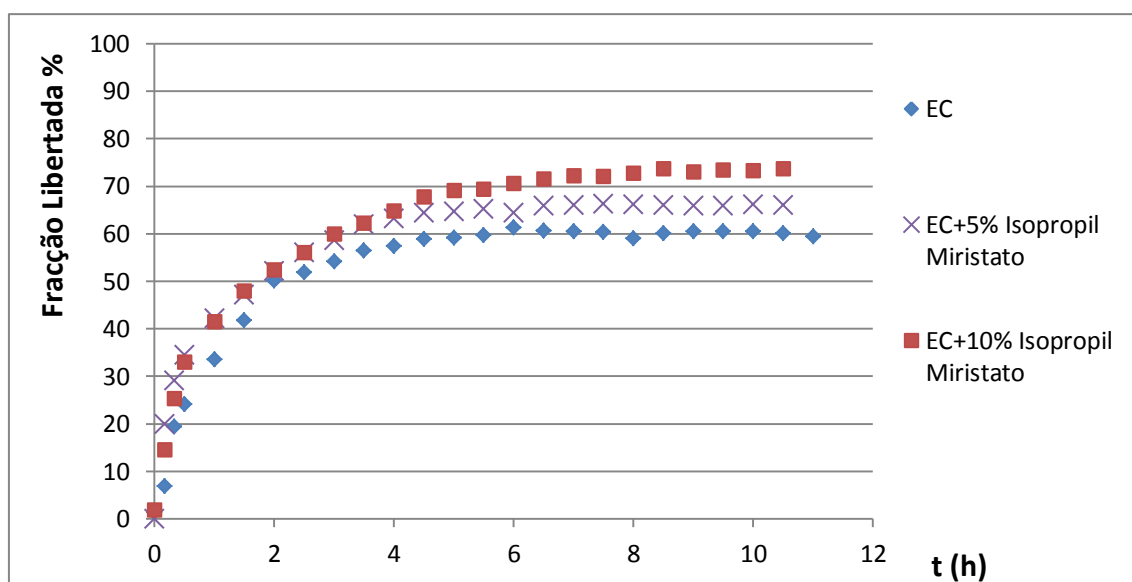


Figura 3.31 – Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas com Etilcelulose e de Etilcelulose com isopropil miristato a pH 6.8.

Na Figura 3.31 e na Tabela 3.6 o efeito de plastificante é pequeno comparativamente a efeitos obtidos por outros plastificantes nas mesmas condições. No entanto, as partículas com uma concentração de isopropil 10% p/p tem uma aumento de velocidade repentino, obtendo um valor de percentagem de naproxeno de 41%.

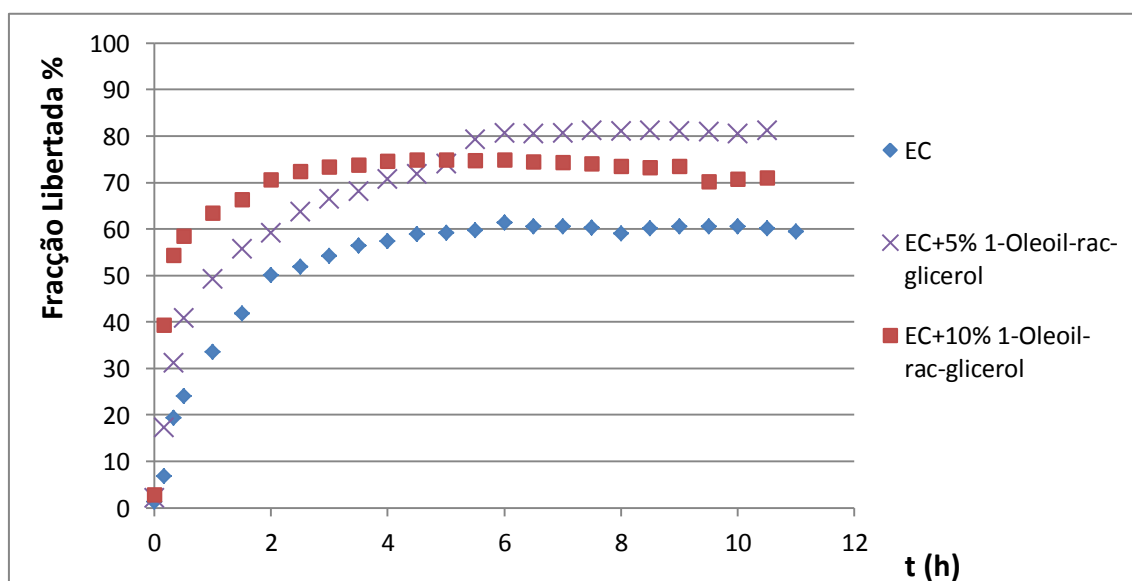


Figura 3.32 - Perfil de Liberação de naproxeno das micropartículas de Etilcelulose e de Etilcelulose com 1-oleoil-rac-glicerol a pH 6.8.

Na Figura 3.32 e na tabela 3.6, pode-se observar que a velocidade de liberação das partículas com EC+10% 1-oleoil-rac-glicerol é superior à velocidade de liberação das partículas com uma concentração de 5% do mesmo plastificante. Por sua vez, após aproximadamente 6h do início do ensaio, ocorre uma inversão do efeito de plastificante e a percentagem de equilíbrio máxima libertada das partículas com uma concentração de 10% passa a ser inferior à percentagem obtida para micropartículas com EC+5% 1-oleoil-rac-glicerol.

Velocidade de Liberação

De modo a ser possível calcular a velocidade com que as micropartículas libertam o fármaco em questão, consoante o plastificante que se está a utilizar, recorreu-se à seguinte fórmula.

$$\text{Velocidade de Liberação} = \frac{\% \text{ libertada } (2h) - \% \text{ libertada } (1h)}{2h - 1h}$$

Tabela 3.6 – Velocidade inicial de liberação de naproxeno das micropartículas com plastificantes da Família C.

Micropartícula com naproxeno	pH=1.2		pH=6.8	
	Velocidade de Liberação (% h ⁻¹)	% no equilíbrio	Velocidade de Liberação (% h ⁻¹)	% no equilíbrio
Etilcelulose	2,4	26	16,6	60
Etilcelulose + 5% Isopropil Miristato	1,6	41	10,8	72
Etilcelulose + 10% Isopropil Miristato	3,8	45	9,9	66
Etilcelulose + 5% 1-Oleoil-rac-glicerol	3,8	48	9,9	81
Etilcelulose + 10% 1-Oleoil-rac-glicerol	8,7	55	7,1	75

3.2.4. Comparação dos perfis de liberação dos plastificantes das três famílias:

De modo a ser mais perceptível analisar os valores obtidos, analisaram-se os resultados por concentrações iguais dentro da mesma família, sendo essas figuras representadas de seguida.

Família A:

Os dados obtidos para os perfis de liberação a pH 1.2 das micropartículas com EC, EC+10% Vitamina K1, EC+10% α -tocoferol acetato e EC+10% ácido fólico são apresentados na Figura 3.33.

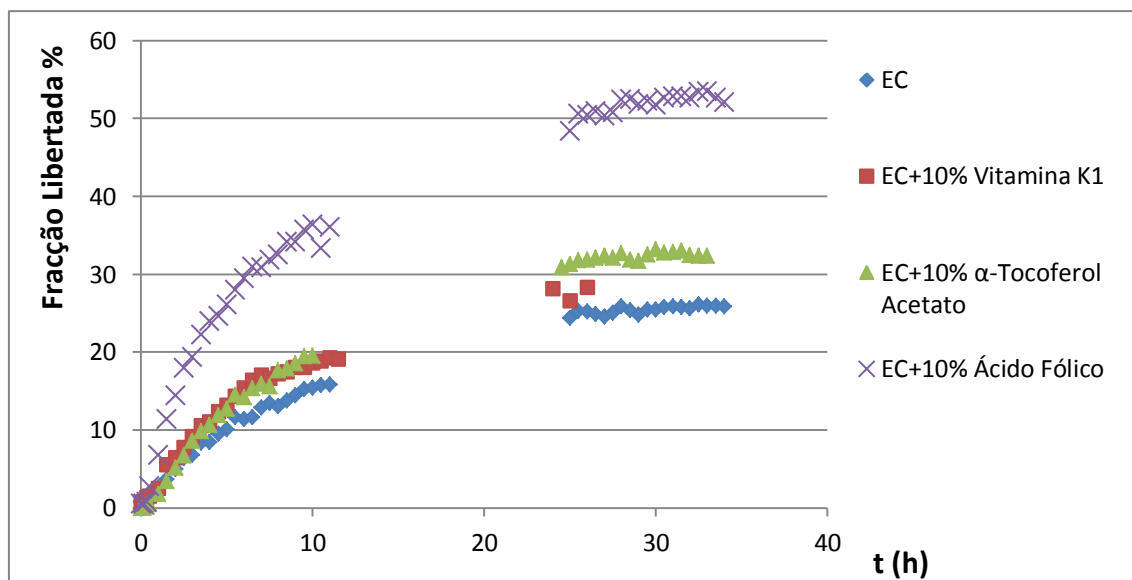


Figura 3.33 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% de plastificante da família A a pH=1.2.

Na figura anterior podemos verificar que as micropartículas com 10% de ácido fólico têm uma velocidade de liberação e uma quantidade de naproxeno libertada muito superior aos restantes plastificantes desta família, destacando-se assim de forma positiva. Por sua vez, pode-se observar que as micropartículas com 10% de vitamina K1 ou 10% de α -tocoferol acetato têm perfis de liberação idênticos e apresentam velocidades e % máxima de liberação superiores às micropartículas contendo apenas etilcelulose. No entanto, esta diferença não é significativa, pelo que se pretende aumentar a liberação de fármaco no estômago, a concentração de plastificantes da família A terá que ser superior a 10% p/p.

Os perfis de liberação das partículas a pH 1.2 com uma concentração de 30% de plastificante da família A são apresentados no gráfico 3.34.

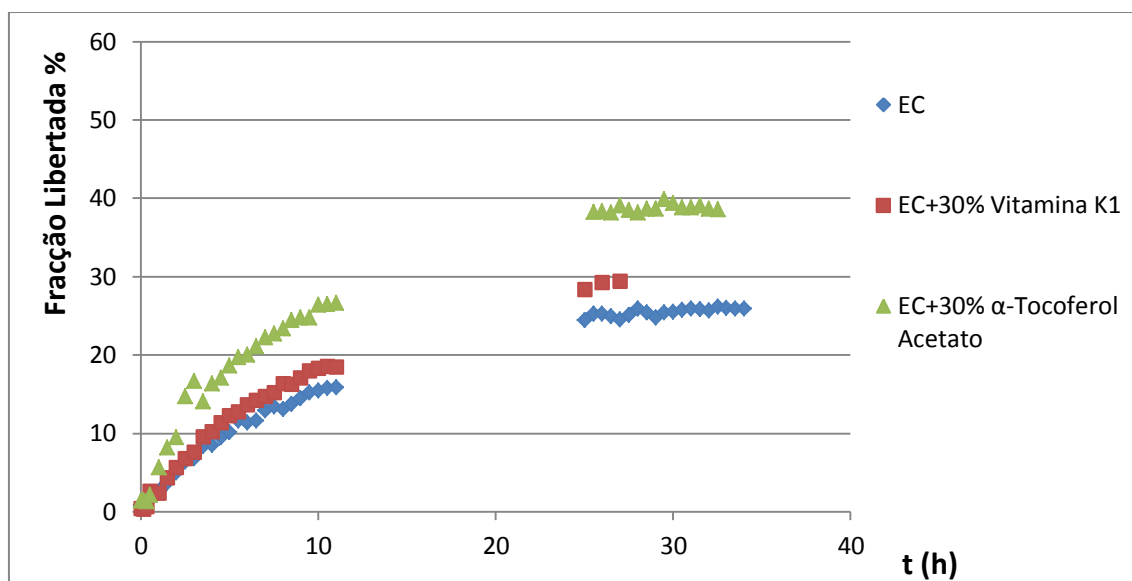


Figura 3.34 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% de plastificante da Família A a pH=1.2

Na Figura 3.34 e Tabela 3.4, pode-se observar que a vitamina K1 e o α -tocoferol em concentrações de 30% p/p aumentam a velocidade de liberação sendo este efeito muito mais evidente no caso do α -tocoferol acetato. A quantidade de fármaco libertada nas primeiras 5 horas após o início do ensaio, comparativamente às partículas sem plastificante é de apenas 3% mais.

Quanto à % de liberação entre 6-8 horas, esta apresenta valores de 10%, 12,5% e 20% para micropartículas sem plastificantes, com vitamina k1 e com α -tocoferol acetato, respectivamente. Analisando os resultados obtidos para a Família A pode-se concluir que, relativamente à liberação no estômago, a vitamina A não traz vantagens e que o plastificante que apresenta maior eficácia para liberação no estômago será o ácido fólico com uma concentração de 10% p/p. Este apresenta uma liberação de 30% de naproxeno em cerca de 6h.

Os ensaios de liberação a pH=6.8 têm um tempo de duração bastante inferior aos ensaios a pH 1.2, tendo em conta que a liberação de naproxeno ocorre de forma mais rápida. Na Figura 3.35, estão representados os perfis de liberação obtidos nos ensaios a pH=6.8 das micropartículas de EC, EC+10% Vitamina K1, EC+10% α -tocoferol acetato e EC+10% ácido fólico e na tabela 3.4 os valores de velocidade inicial de liberação e percentagem máxima de liberação obtidos.

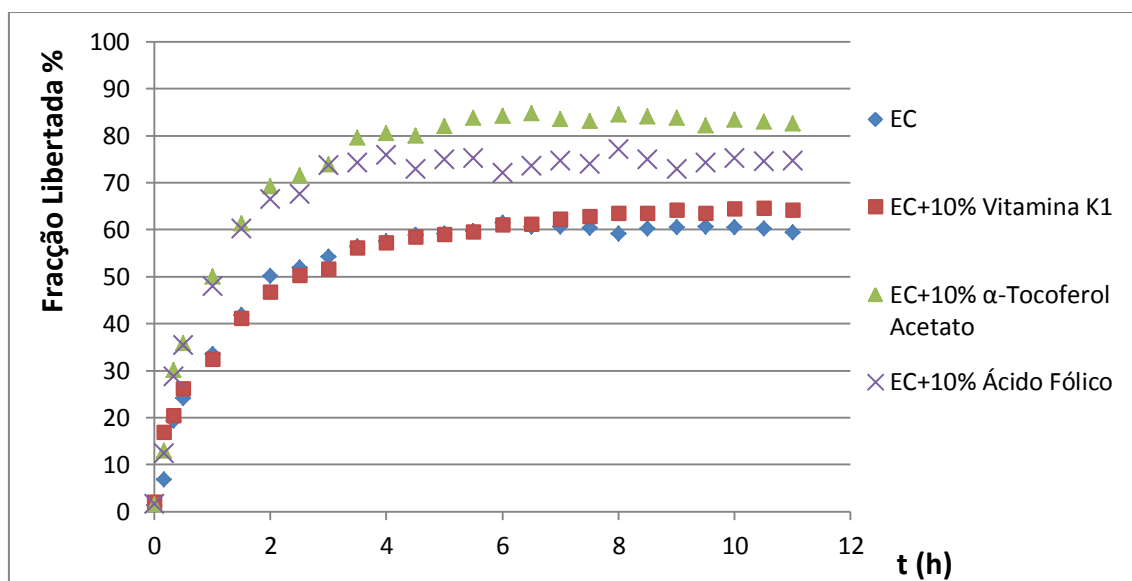


Figura 3.35 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da Família A a pH=6.8

Na Figura 3.35 e na Tabela 3.4, pode-se observar que a presença de vitamina K1 10% p/p não afecta o perfil de liberação das micropartículas contendo apenas etilcelulose enquanto o α -tocoferol acetato causa um aumento quer da velocidade inicial de liberação quer da % máxima de liberação. Quanto à % de liberação entre 6-12h (tempo de residência de formulações orais no intestino), esta apresenta valores de 60% e 85% para micropartículas sem plastificante e com α -tocoferol, respectivamente.

Os resultados obtidos nos perfis de concentração a pH 6.8 das micropartículas com EC, EC+30% Vitamina k1, EC+30% α -tocoferol acetato e estão representados na Figura 3.36.

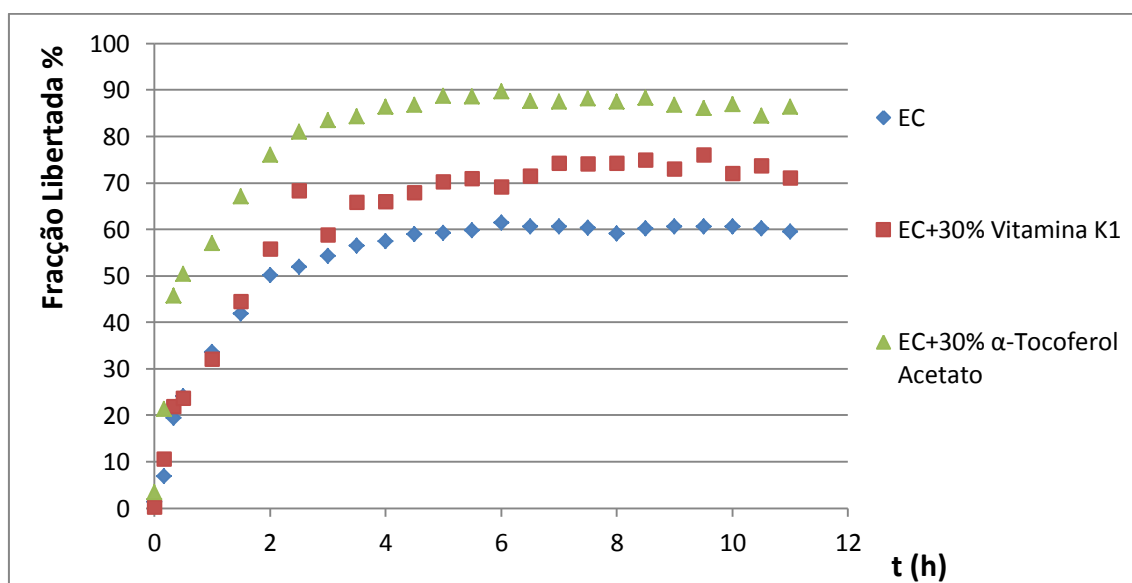


Figura 3.36 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% dos plastificantes da Família A a pH=6.8

Na Figura 3.36 e na Tabela 3.4, pode-se observar que quer a vitamina K1 quer o α -tocoferol acetato a 30% p/p aumentam a velocidade inicial de liberação e a % máxima de liberação, sendo este efeito maior no caso do α -tocoferol acetato. Quanto à % de liberação em 6-12h (tempo de residência de formulações orais no intestino), esta apresenta valores muito elevados relativamente aos observados na literatura, de 60, 75 e 90% para micropartículas sem plastificante, e com vitamina k1 e α -tocoferol, respectivamente.

Analisando os resultados obtidos para a Família A pode-se concluir que, relativamente à liberação no intestino, a vitamina A tem poucas vantagens e apenas em concentrações de 30% p/p. O plastificante que apresenta maior eficácia é o α -tocoferol sendo a concentração mais adequada a de 10% p/p pois permite obter uma liberação de 85 % com menor quantidade de plastificante e portanto menor custo.

Família B

Os dados obtidos referentes aos perfis de liberação com uma concentração de 10% dos plastificantes da família B, são apresentados no gráfico seguinte.

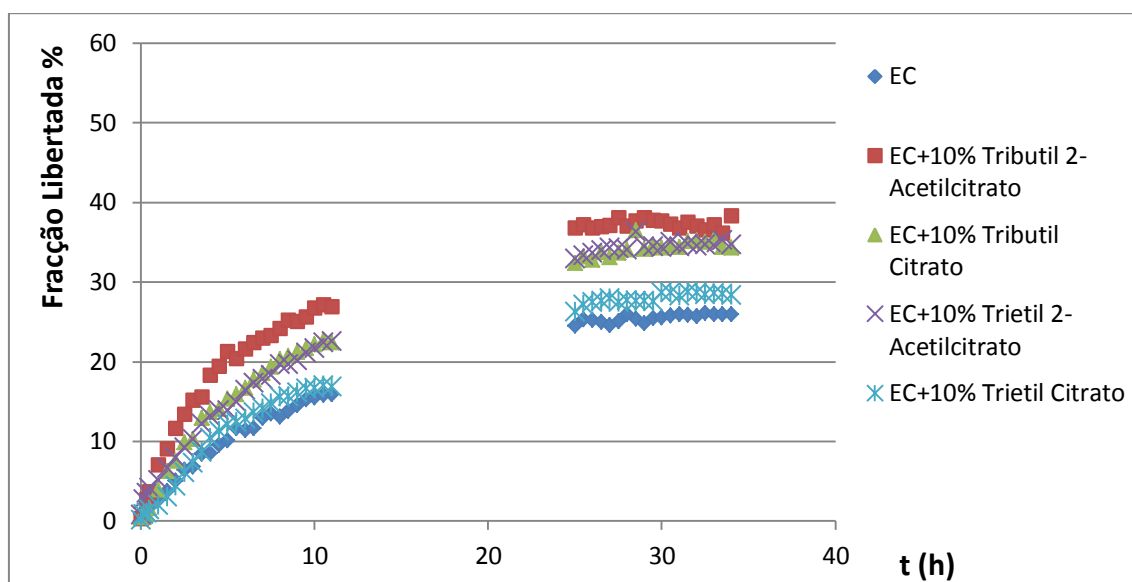


Figura 3.37 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% de plastificante da Família B a pH=1.2

Na Figura 3.37 e na Tabela 3.5, pode-se constatar que de uma forma geral, as micropartículas com tributyl 2-acetiltrato têm uma velocidade de liberação e uma percentagem máxima de

libertação de naproxeno superior aos restantes plastificantes pertencentes a esta família. As micropartículas com trietil citrato têm uma velocidade de libertação igual às partículas com naproxeno, mas a sua percentagem máxima de libertação de naproxeno é cerca de 3% superior. Pode-se verificar que as micropartículas com tributil citrato e trietil 2-acetilcitrato têm a mesma velocidade de libertação, como também a mesma percentagem máxima de fármaco libertada.

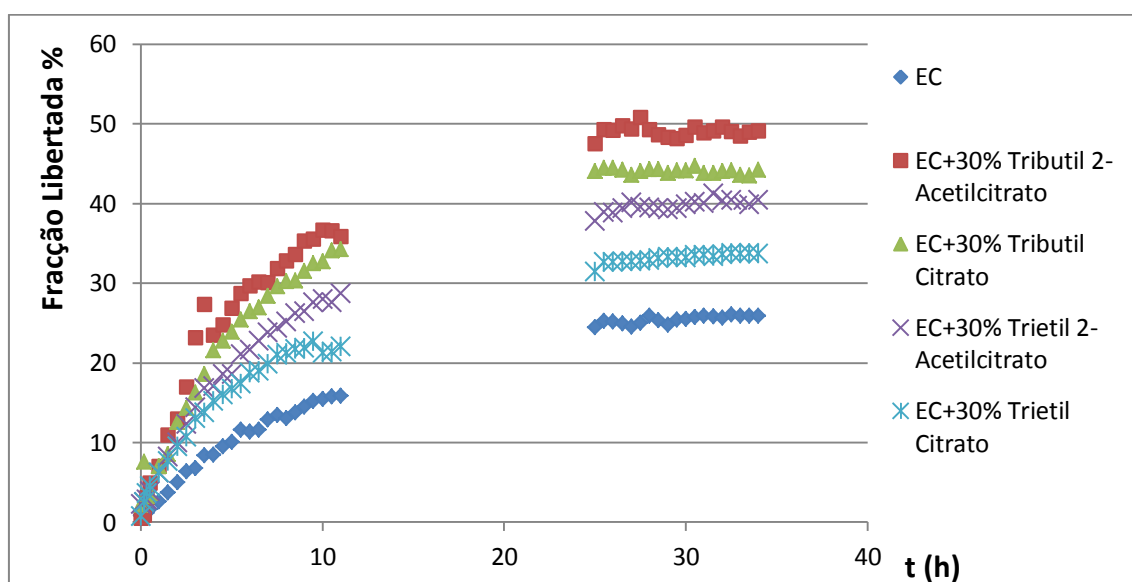


Figura 3.38 – Perfil de libertação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% de plastificante da Família B a pH=1.2

Na Figura 3.38 e na Tabela 3.5, é possível verificar-se que nas primeiras horas os plastificantes desta família têm a mesma velocidade de libertação e nas horas seguintes vão se diferenciando com o decorrer do ensaio, sendo o tributil 2-acetilcitrato o plastificante que liberta uma concentração de fármaco superior aos restantes. Essa libertação máxima de concentração é bastante notória pois corresponde a cerca de 25% mais de naproxeno libertado comparativamente às micropartículas sem plastificante.

Os dados obtidos referentes aos perfis de libertação a pH=6.8 com uma concentração de 10% dos plastificantes da família B, são apresentados no gráfico seguinte.

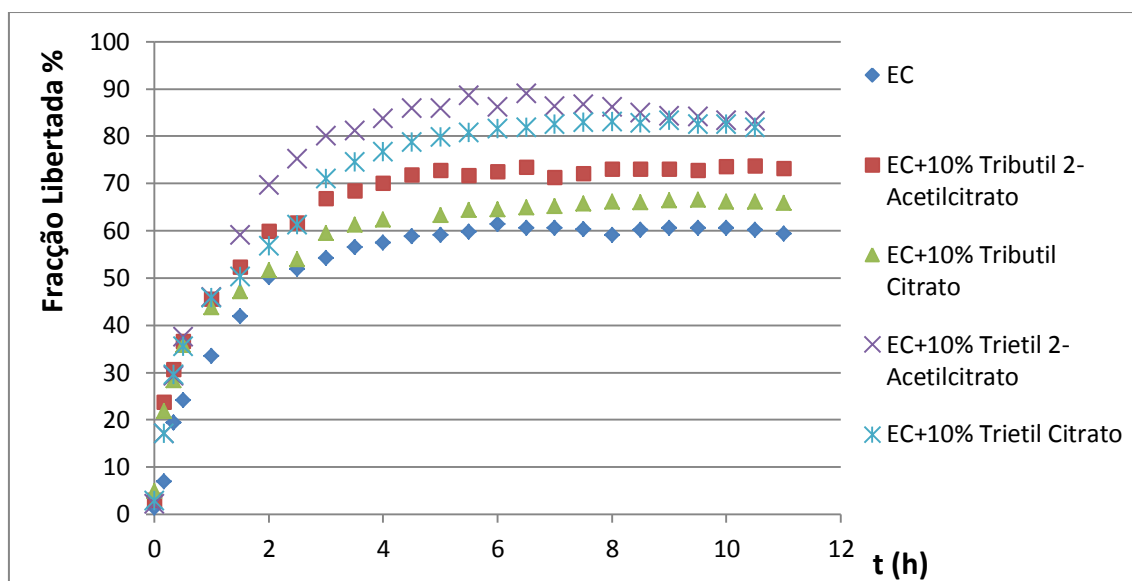


Figura 3.39 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da Família B a pH=6.8

Os plastificantes têm a mesma velocidade de liberação nas primeiras duas horas de ensaio como se pode verificar no gráfico anterior. Por sua vez, no decorrer do ensaio as micropartículas com trietil citrato e trietil 2-acetilcitrato têm um equilíbrio máximo idêntico, libertando aproximadamente 20% mais de naproxeno que as partículas sem plastificante, enquanto que as partículas com tributyl 2-acetilcitrato libertam apenas de 12 % mais e as partículas com tributyl citrato têm um efeito de plastificante menor, libertando apenas 5% mais que as partículas constituídas apenas com fármaco.

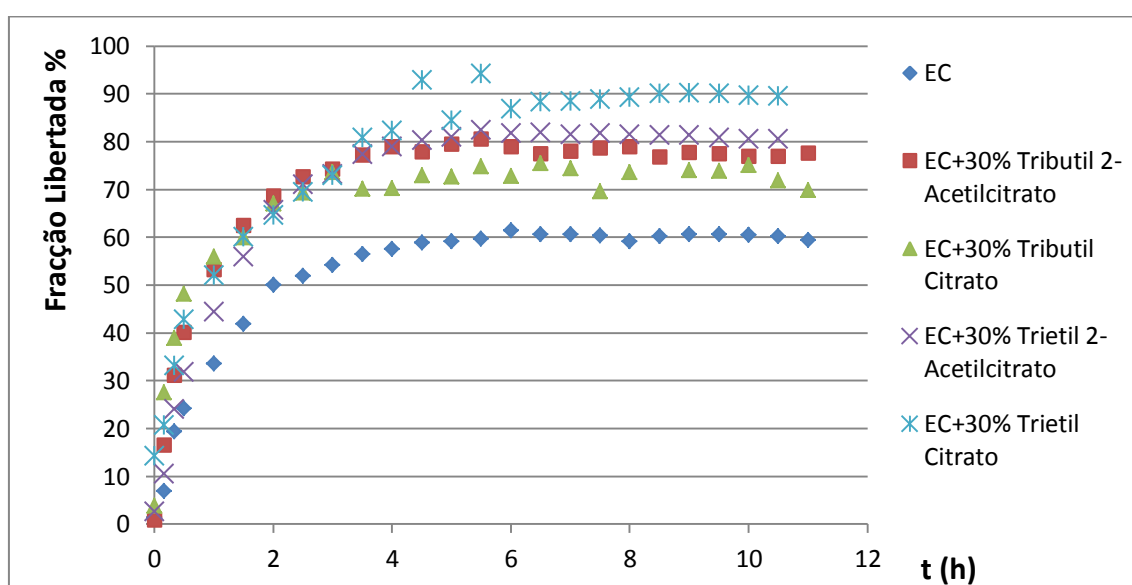


Figura 3.40 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 30% dos plastificantes da Família B.

Nas micropartículas com uma concentração de 30% de plastificantes da família B analisadas na Figura 3.40, a velocidade de liberação nas primeiras horas dos ensaios são semelhantes, passando a diferenciar-se 4 horas após o início deste. As partículas constituídas por trietil citrato são as que têm um equilíbrio máximo superior libertando cerca de 30 % mais que as partículas com naproxeno, enquanto que os restantes plastificantes diferem pouco uns dos outros, tendo um valor máximo de fármaco libertado entre 10 e 20% mais que as partículas sem plastificante.

Família C

A família C é constituída por dois plastificantes, isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol. No gráfico seguinte são apresentados os perfis obtidos para pH=1.2.

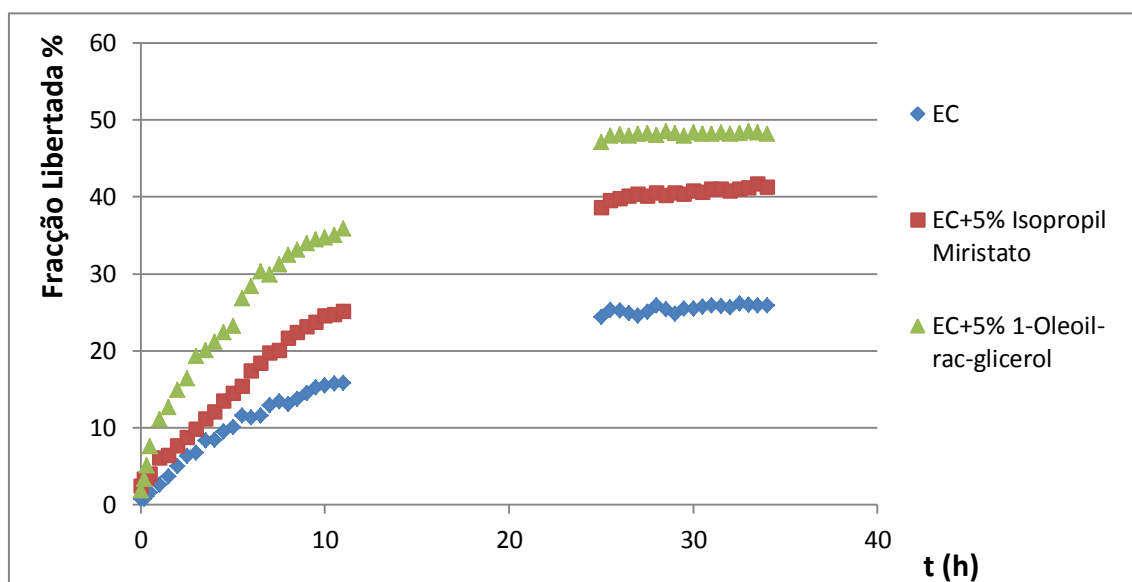


Figura 3.41 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 5% dos plastificantes da Família C a pH=1.2

Na figura anterior pode-se observar um efeito notório no dois plastificantes, onde as partículas com EC+5% 1-oleoil-rac-glicerol libertam cerca de 20% mais de naproxeno que as partículas com EC.

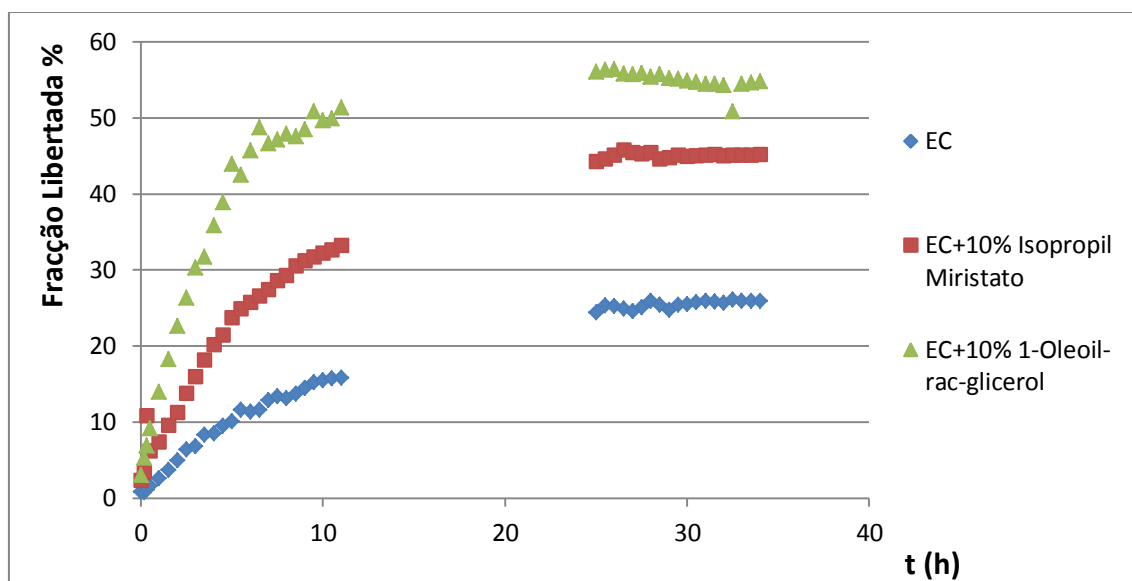


Figura 3.42 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da Família C a pH=1.2

Nas Figuras 3.41 e 3.42 pode-se observar que na família C o plastificante com maior efeito é o 1-oleoil-rac-glicerol tanto numa concentração como na outra.

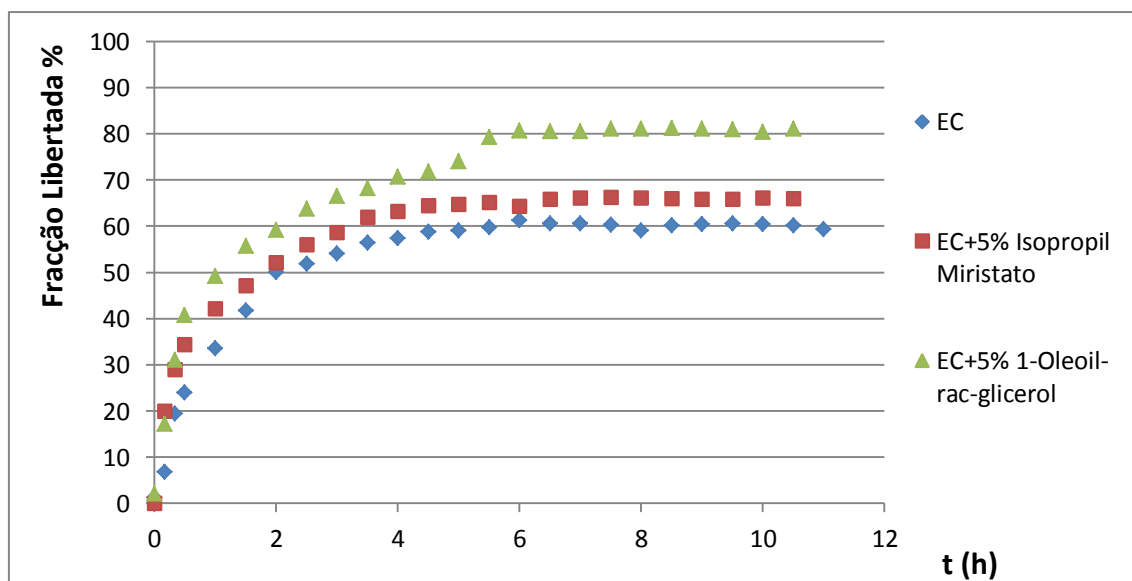


Figura 3.43 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 5% dos plastificantes da Família C a pH=6.8

Na Figura 3.43 os plastificantes não têm um efeito tão grande como nos meios a pH=1.2, no entanto é de notar que o 1-oleoil-rac-glicerol tem um maior de plastificante que o isopropil miristato.

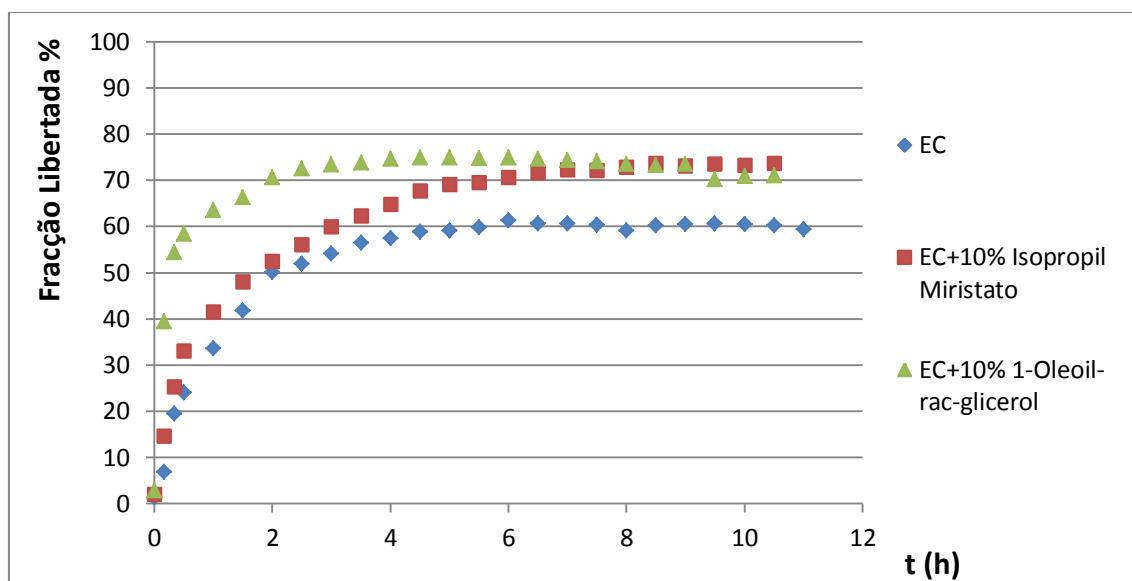


Figura 3.44 – Perfil de liberação das micropartículas com naproxeno e das micropartículas com uma concentração de 10% dos plastificantes da Família C pH=6.8

Na Figura 3.44, pode-se observar que o isopropil miristato e o 1-oleoil-rac-glicerol a 10% p/p aumentam a velocidade inicial de liberação e a % máxima de liberação, sendo este efeito maior no caso do 1-oleoil-rac-glicerol. A velocidade de liberação e o valor máximo de fracção libertada de naproxeno é superior nas partículas com isopropil miristato, libertando cerca de 15 % mais fármaco que as micropartículas sem plastificante.

Analisando os resultados obtidos para a Família C, pode-se concluir que, apesar do 1-oleoil-rac-glicerol permitir obter 75% de liberação de fármaco, o processo de liberação é muito rápido e menos controlado pelo que o plastificante mais adequado é o isopropil miristato. Este apresenta uma liberação de 65% em cerca de 6h mas com uma menor velocidade de liberação permitindo, assim, obtém-se uma liberação de fármaco gradual e não repentina, mais eficiente em termos de absorção do fármaco.

3.3. Modelos Cinéticos

Os parâmetros n e k da equação 1.4 do modelo de Korsmeyer-Peppas e a equação 1.2 do modelo de Higuchi foram calculados por ajuste dos valores de $\frac{M_t}{M_\infty}$ ao longo do tempo obtidos nos ensaios de libertação às respectivas equações recorrendo ao programa Scientist.

3.3.1. Família A

Os valores dos parâmetros obtidos para a família A encontram-se na tabela 3.7.

Tabela 3.7 – Valores dos parâmetros dos modelos de Korsmeyer-Peppas e de Higuchi das micropartículas da Família A.

Micropartículas com naproxeno	pH	Korsmeyer-Peppas			Higuchi (n=0,5)	
		$n \pm \sigma$	$k \pm \sigma$	R^2	k	R^2
Etilcelulose	1.2	$0,52 \pm 0,03$	$1,7 \pm 0,14$	0,998	2,2	0,993
Naproxeno + [Vitamina K1]=10%	1.2	$0,51 \pm 0,04$	$2,20 \pm 0,25$	0,993	3,4	0,995
Naproxeno + [Vitamina K1]=30%	1.2	$0,57 \pm 0,04$	$1,66 \pm 0,15$	0,996	2,3	0,995
Naproxeno + [α -Tocoferol Acetato]=10%	1.2	$0,55 \pm 0,04$	$1,92 \pm 0,22$	0,996	3,1	0,993
Naproxeno + [α -Tocoferol Acetato]=30%	1.2	$0,44 \pm 0,03$	$3,31 \pm 0,29$	0,996	3,7	0,970
Naproxeno + [Ácido Fólico]=5%	1.2	$0,40 \pm 0,03$	$43,50 \pm 0,29$	0,996	3,6	0,993
Naproxeno + [Ácido Fólico]=10%	1.2	$0,42 \pm 0,03$	$4,70 \pm 0,43$	0,995	5,5	0,991
Etilcelulose	6.8	-	-	-	13,1	0,936
Naproxeno + [Vitamina K1]=10%	6.8	-	-	-	10,5	0,980
Naproxeno + [Vitamina K1]=30%	6.8	-	-	-	12,6	0,979
Naproxeno + [α -Tocoferol Acetato]=10%	6.8	-	-	-	18,9	0,962
Naproxeno + [α -Tocoferol Acetato]=30%	6.8	-	-	-	25,8	0,936
Naproxeno + [Ácido Fólico]=5 %	6.8	-	-	-	16,9	0,996
Naproxeno + [Ácido Fólico]=10 %	6.8	-	-	-	18,3	0,976

Na tabela anterior pode-se verificar que para os ensaios de libertação a pH=1.2 os valores de n no modelo de Korsmeyer-Peppas estão próximos de 0,5 o que significa que o processo de libertação se dá por difusão do fármaco através da matriz polimérica. No entanto, a pH=6.8 este modelo não é adequado pelo facto de que para valores de libertação <60%, obtém-se um número de pontos experimentais insuficientes devido às elevadas velocidades de libertação. Assim, não é possível aplicar este modelo. Relativamente aos valores de k obtidos nos dois modelos não é possível fazer uma relação com os vários plastificantes nas várias concentrações,

no entanto observa-se que quanto maior o valor de k , maior o efeito de plastificante do composto.

3.3.2. Família B

Os valores dos parâmetros obtidos para a família B encontram-se na Tabela 3.8.

Tabela 3.8 – Valores dos parâmetros dos modelos de Korsmeyer-Peppas e de Higuchi das micropartículas da Família B.

Micropartículas com naproxeno	pH	Korsmeyer-Peppas			Higuchi ($n=0,5$)	
		$n \pm \sigma$	$k \pm \sigma$	R^2	k	R^2
Etilcelulose	1.2	$0,52 \pm 0,03$	$1,7 \pm 0,14$	0,998	2,2	0,993
Etilcelulose + [Trietil Citrato]=10 %	1.2	$0,52 \pm 0,03$	$1,72 \pm 0,17$	0,997	2,4	0,983
Etilcelulose + [Trietil Citrato]=30 %	1.2	$0,41 \pm 0,02$	$3,17 \pm 0,19$	0,998	3,0	0,994
Etilcelulose + [Trietil 2-acetilcitrato]=10 %	1.2	$0,48 \pm 0,02$	$2,54 \pm 0,17$	0,998	2,7	0,991
Etilcelulose + [Trietil 2-acetilcitrato]=30 %	1.2	$0,42 \pm 0,03$	$3,56 \pm 0,29$	0,996	3,8	0,994
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=10 %	1.2	$0,47 \pm 0,03$	$2,33 \pm 0,20$	0,997	2,9	0,996
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=30 %	1.2	$0,38 \pm 0,03$	$4,60 \pm 0,47$	0,994	5,1	0,993
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=40 %	1.2	$0,36 \pm 0,03$	$5,64 \pm 0,46$	0,995	4,6	0,934
Etilcelulose + [tributil-2-acetilcitrato]=10 %	1.2	$0,39 \pm 0,03$	$4,15 \pm 0,36$	0,996	4,2	0,992
Etilcelulose + [tributil-2-acetilcitrato]=30 %	1.2	$0,38 \pm 0,03$	$5,10 \pm 0,53$	0,994	5,4	0,963
Etilcelulose	6.8	-	-	-	13,1	0,936
Etilcelulose + [Trietil Citrato]=10 %	6.8	-	-	-	16,1	0,984
Etilcelulose + [Trietil Citrato]=30 %	6.8	-	-	-	14,8	0,929
Etilcelulose + [Trietil 2-acetilcitrato]=10 %	6.8	-	-	-	17,1	0,978
Etilcelulose + [Trietil 2-acetilcitrato]=30 %	6.8	-	-	-	15,9	0,946
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=10 %	6.8	-	-	-	14,2	0,996
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=30 %	6.8	-	-	-	22,9	0,998
Etilcelulose + [Tributil Citrato]=40 %	6.8	-	-	-	34,3	0,895
Etilcelulose + [tributil-2-acetilcitrato]=10 %	6.8	-	-	-	194	0,998
Etilcelulose + [tributil-2-acetilcitrato]=30 %	6.8	-	-	-	19,9	0,980

Os valores obtidos de n a partir do modelo matemático Korsmeyer-Peppas para o pH=1.2 foram próximos de 0,5, o que significa que o processo se dá por difusão do fármaco através da matriz polimérica, à exceção dos valores obtidos para o plastificante tributil 2-acetilcitrato. Tal

como foi explicado na família A (subcapítulo 3.3.1.) para o modelo matemático Korsmeyer-Peppas a um pH=6.8 os valores não foram analisados.

3.3.3. Família C

Os valores dos parâmetros obtidos para a família C encontram-se na Tabela 3.9.

Tabela 3.9 – Valores dos parâmetros dos modelos de Korsmeyer-Peppas e de Higuchi das micropartículas da Família C.

Micropartículas com naproxeno	pH	Korsmeyer-Peppas			Higuchi (n=0,5)	
		n ± σ	k ± σ	R ²	k	R ²
Etilcelulose	1.2	0,52 ± 0,03	1,7 ± 0,14	0,998	2,2	0,993
Etilcelulose + [Isopropil Miristate]=5 %	1.2	0,54 ± 0,03	21,27 ± 1,75	0,998	3,2	0,991
Etilcelulose + [Isopropil Miristate]=10 %	1.2	0,39 ± 0,03	4,36 ± 0,38	0,996	4,7	0,993
Etilcelulose + [1-Oleoil-rac-glicerol]=5 %	1.2	0,38 ± 0,02	4,60 ± 0,34	0,997	3,9	0,990
Etilcelulose + [1-Oleoil-rac-glicerol]=10 %	1.2	0,25 ± 0,04	11,68 ± 1,49	0,985	9,1	0,992
Etilcelulose	6.8	-	-	-	13,1	0,936
Etilcelulose + [Isopropil Miristate]=5 %	6.8	-	-	-	13,3	0,979
Etilcelulose + [Isopropil Miristate]=10 %	6.8	-	-	-	17,8	0,999
Etilcelulose + [1-Oleoil-rac-glicerol]=5 %	6.8	-	-	-	18,3	0,959
Etilcelulose + [1-Oleoil-rac-glicerol]=10 %	6.8	-	-	-	39,2	0,986

Na tabela pode-se observar os resultados obtidos através dos modelos matemáticos referidos. Os valores de n obtidos pelo modelo de Korsmeyer-Peppas, á exceção dos resultados obtidos para o composto 1-oleoil-rac-glicerol, são próximos de 0,5, tal como se observou nas famílias A e B, significando assim que a libertação do fármaco modelo se dá por difusão. Relativamente ao meio a pH=6.8, não se analisou os resultados para o modelo matemático Korsmeyer-Peppas tal como foi explicado no subcapítulo 3.3.1.

Conclusão

Efeito da adição de Plastificantes na Liberação Controlada de Naproxeno de Partículas de Etilcelulose
= *Conclusão* =

Neste trabalho, pretendeu-se avaliar se compostos biocompatíveis contendo o grupo C=O poderiam ser utilizados como plastificantes no processo de libertação de um fármaco modelo, o naproxeno, de micropartículas de etilcelulose e seleccionar o mais adequado ao sistema fármaco/polímero em estudo, para libertação no estômago ou no intestino. Foram testados compostos que foram agrupados, de acordo com a estrutura química, em três famílias. *Família A*: vitamina K1, α -tocoferol acetato, ácido fólico, *Família B*: trietil citrato, trietil 2-acetilcitrato, tributil citrato, tributil 2-acetilcitrato e *Família C*: isopropil miristato e 1-oleoil-rac-glicerol.

As micropartículas contendo os vários compostos em estudo foram produzidas pelo método de extracção/evaporação do solvente, caracterizadas relativamente à sua morfologia, tamanho, eficiência de encapsulação e propriedades térmicas. Os resultados de SEM mostraram que as micropartículas de etilcelulose contendo qualquer um dos compostos, apresentam uma morfologia irregular e não esférica e com uma superfície rugosa, ao contrário das partículas contendo apenas etilcelulose, com excepção das que contêm tributil 2-acetilcitrato que apresentam uma forma esférica. As micropartículas contendo qualquer um dos compostos das 3 Famílias apresentam geralmente tamanhos menores do que as partículas contendo apenas etilcelulose (400 μm) o que pode dever-se a um efeito do composto na estabilização da interface água/óleo da microemulsão formada no processo de produção das partículas. Os compostos tributil 2-acetilcitrato e 1-oleoil-rac-glicerol são os que mostram um maior efeito na diminuição do tamanho das partículas, apresentando uma dimensão média de 120 μm e 167 μm , respectivamente.

Quanto à análise térmica das micropartículas não foi possível tirar nenhuma conclusão uma vez que a t_m do fármaco é inferior e muito próxima da t_g da etilcelulose, havendo uma sobreposição dos fenómenos de fusão do fármaco e de transição vítrea da etilcelulose.

Relativamente à eficiência de encapsulação do naproxeno nas micropartículas com compostos de qualquer das famílias, esta apresentou valores elevados (entre 60% e 80%, com a maioria a apresentar valores próximos de 70%) e ligeiramente maiores do que os valores de partículas contendo apenas etilcelulose (65%), podendo assim, concluir-se que o método de produção utilizado para o sistema em estudo é eficiente e que a presença de compostos das Famílias A, B e C aumentam esta eficiência. Este aumento pode dever-se à estabilização da interface na microemulsão o que dificulta a perda de fármaco para a fase aquosa.

De forma a verificar a capacidade dos compostos em estudo de actuarem como plastificantes no processo de libertação do naproxeno incorporado nas micropartículas e aumentar a quantidade máxima de fármaco libertado num intervalo de tempo adequado: 4 – 6 horas (tempo de

residência no estômago) ou 6 – 12 (tempo de residência no intestino) foram realizados ensaios de liberação a pH 1.2, simulando as condições gástricas, e pH 6.8, simulando as condições intestinais.

Verificou-se que a liberação de naproxeno das micropartículas em meios com um pH=6.8 ocorre muito mais rapidamente e que a quantidade máxima de fármaco libertado é superior à quantidade de fármaco libertada nos meios a pH=1.2, o grupo ácido do naproxeno encontra-se desprotonado apresentando o fármaco uma carga negativa, o que aumenta a sua hidrofiliidade. Este facto faz, por um lado diminuir as interações hidrofóbicas entre o naproxeno e a etilcelulose, e por outro aumentar a solubilidade do naproxeno em água favorecendo o processo de liberação.

Nos ensaios de liberação realizados nos dois pHs de estudo, verificou-se um aumento da velocidade inicial de liberação e da quantidade máxima de fármaco libertado na presença de compostos de qualquer uma das Famílias, podendo concluir-se que estes compostos têm a capacidade de actuar como plastificantes. Verificou-se que, em geral, e nas gamas estudadas (5% a 40 % p/p), este efeito plastificante aumenta com concentração do composto.

Relativamente à família A, a vitamina k1, o α -tocoferol acetato e o ácido fólico mostraram um efeito plastificante, mais evidente no caso do ácido fólico. Os resultados obtidos mostram que, relativamente à liberação no estômago, a vitamina A não traz vantagens, uma vez que em 6-8 horas apresenta uma % de liberação de 12,5% e que o plastificante que apresenta maior eficácia para liberação no estômago é o ácido fólico com uma concentração de 10% p/p pois permite, no mesmo intervalo de tempo, obter uma % de liberação de 30%.

Quanto à liberação no intestino, o plastificante que apresenta maior eficácia é o α -tocoferol sendo a concentração mais adequada a de 10% p/p pois permite obter uma liberação de 85 % com menor quantidade de plastificante e portanto menor custo. A vitamina A apresenta poucas vantagens e apenas em concentrações de 30% p/p.

No grupo composto por citratos, família B, conclui-se que de uma forma geral a pH=1.2 o plastificante tributil 2-acetilcitrato tem um maior efeito que os restantes plastificantes, no entanto num meio a pH=6.8 o plastificante com maior efeito foi o trietil 2-acetilcitrato. Verificou-se também que os plastificantes com um grupo acetil obtiveram melhores resultados e que por sua vez os plastificantes com um grupo tributil têm maior efeito plastificante que os compostos com um grupo trietil possivelmente por terem mais carbonos na sua estrutura o que faz com que esta fique mais volumosa existindo mais espaço para o fármaco se libertar.

Por último, na família C, o composto com maior efeito plastificante nos dois meios é o 1-oleoil-rac-glicerol, tendo um efeito plastificante muito mais evidenciado a pH=1.2, conseguindo libertar às 4 – 6 horas (tempo de residência no estômago) 25% e 40% em partículas com 5% e 10% p/p. Quanto à aplicação para liberação no intestino o plastificante mais adequado é o isopropil miristato pois permite uma liberação gradual, de 65% de fármaco em cerca de 6h, mais eficiente em termos de absorção do fármaco.

Pode-se assim concluir que os plastificantes mais adequados são o ácido fólico 10% p/p e o 1-oleoil-rac-glicerol 10% p/p para liberação no estômago e o α -tocoferol acetato 30% p/p e o trietil citrato 30% p/p para liberação no intestino.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] L. Lachman, H. A. Lieberman e J. L. Kanig, Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.
- [2] G. Singhvi e M. Singh, "In vitro drug release characterization models," *International Journal of Pharmaceutical*, 2011.
- [3] A. M. Magaly, J. Soares-Sobrinho, M. T. Brasileiro e et al., "Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Libertação Controlada de Fármacos," *Lat. Am. J. Pharm.*, vol. 26, 2007.
- [4] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaaro, R. S. Langer e K. M. Shaskesheff, "Polymeric Systems for Controlled Drug Release," *Chem. Rev.*, 1999.
- [5] C. G. Wilson e P. J. Crowley, Controlled Release in Oral Drug Delivery, Springer, 2011.
- [6] H. Wen e K. Park, Oral Controlled Release, Formulation Design and Drug Delivery, USA: Wiley, 2010.
- [7] J. Spiepmann, R. A. Siegel e M. J. Rathbone, Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery, Springer, 2012.
- [8] A. K. Bajpai, S. K. Shukla, S. Bhanu e K. Sanjana, "Responsive polymers in controlled drug delivery," Vols. 1, 233 (1088-1118), 2008.
- [9] D. S. Kohane, "Microparticles and Nanoparticles for drug Delivery," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 26, 2007.
- [10] C. Dubernet, J. C. Rouland e J. P. Benoit, "Ibuprofen - Loaded ethylcellulose microspheres: Analysis of the matrix structure by thermal analysis," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 80, 1991.
- [11] S. S. Feng e L. Mu, "A novel controlled release formulation for anticancer drug paclitaxel (Taxol): PLGA nanoparticles containing citamina E TPGS," *Journal of Controlled Release*, 2003.
- [12] M. Saravanan, K. Bhaskar, G. S. Rao e M. D. Dhanaraju, "Ibuprofen-loaded ethylcellulose/polystyrene microspheres: an approach to get prolonged drug release with reduced burst effect and low ethylcellulose content," *Journal of Microencapsulation*, vol. 20, 2003.
- [13] S. Dash, P. N. Murthy, L. Nath e P. Chowdhury, "Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems," *Drug Research*, vol. 67, 2010.
- [14] J. Spiemann e F. Spiemann, "Modeling of diffusion controlled drug delivery," *Journal of*

Controlled Release, 2012.

- [15] P. Costa e J. M. S. Lobo, "Modeling and comparison of dissolution profiles," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001.
- [16] Y. Fu e W. J. Kao, "Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems," *National Institutes of Health*, 2010.
- [17] A. Versypt, D. Pack e R. Braatz, "Mathematical modeling of drug delivery from autocatalytically degradable PLGA micrispheres," *Journal of Controlled Release*, 2013.
- [18] Y. Yeo, N. Baek e K. Park, "Microencapsulation methods of delivery of protein drugs," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 2001.
- [19] R. Dubey, T. C. Shami e K. U. B. Rao, "Microencapsulation technology and applications," *Science Journal*, vol. 59, 2009.
- [20] B. Fei, C. Chen, H. Wu e et al., "Comparative study of PHBV/TBP and PHBV/BPA blends," *Society of Chemical Industry*, 2004.
- [21] M. Hombreiro-Pérez, J. Spiepmann, C. Zinutti e et al., "Non-degradable microparticles containing a hydrophilic and/or a lipophilic drug: preparation, characterization and drug release modeling," *Journal of Controlled Release*, 2003.
- [22] "Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency," *Journal of Microencapsulation*, 2010.
- [23] P. Valot, M. Baba e J. M. Nedelec, "Effects of process parameters on the properties of biocompatible Ibuprofen-loaded microcapsules," *International Journal of Pharmaceutics*, 2009.
- [24] A. I. Arida, B. Amro, M. Jaghbir e et al., "Development of sustained-release Ibuprofen microspheres using solvent evaporation technique," *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem*, 1999.
- [25] N. Bolourtchian, K. Karimi e R. Aboofazeli, "Preparation and characterization of ibuprofen microspheres," *Journal of Microencapsulation*, 2005.
- [26] H. Umer, H. Nigam, A. M. Tamboli e et al., "Microencapsulation: Process, Techniques and Applications," *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, vol. 2, 2011.
- [27] I. Janigová, I. Lacík e I. Chodák, "Thermal degradation of plasticized poly(3-hydroxybutyrate) investigated by DSC," *Polymer Degradation and Stability*, 2002.
- [28] H. L. Lai, K. Pitt e D. Q. M. Craig, "Characterisation of the thermal properties of ethylcellulose using differential scanning and quasi-isothermal calorimetric approaches,"

International Journal of Pharmaceutics, 2010.

- [29] E. Snejdrova e M. Dittrich, “Pharmaceutical applications of plasticized polymers,” Faculty of Pharmacy, Charles University in Prague, Republica Checa, 2012.
- [30] C. T. Sengel-Turk, C. Hascicek e G. Nursin, “Ethylcellulose-Based Matrix type Microspheres: Influence of Plasticizer ratio as Pore-Forming Agent,” *AAPS PharmSciTech*, vol. 12, 2011.
- [31] N. Grattard, M. Pernin, B. Marty e et al., “Study of release kinetics of small and high molecular weight substances dispersed into spray-dried ethylcellulose microspheres,” *Journal of Controlled Release*, 2002.
- [32] B. Haley e E. Frenkele, “Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment,” *Urologic oncology-seminars and originals investigation*, vol. 26, 2008.
- [33] M. Azevedo, “Monografia: Nanoesferas e a liberação controlada de fármacos,” *KQES-Laboatorio de Química do Estado Sólido. Instituto de química, Unicamp*, 2002.
- [34] M. S. D. S. S. Rawat, “Nanocarriers: promising vehicles for bioactive drugs,” *Pharm. Bull*, vol. 29, 2006.

6

ANEXOS

6.1. Termogramas Representativos de DSC

6.1.1. Etilcelulose

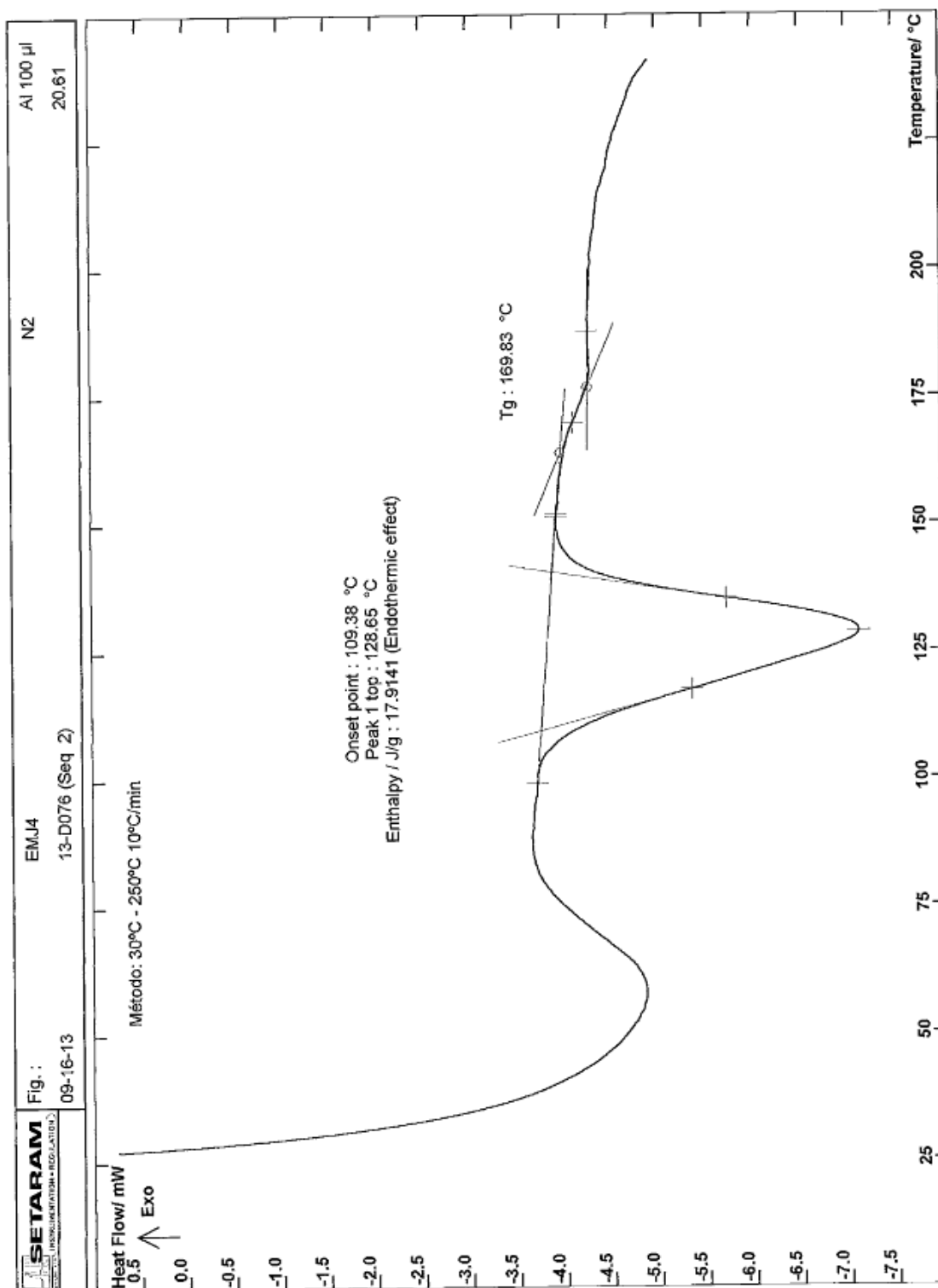


Figura 6.1. – Termograma das micropartículas de etilcelulose com naproxeno obtido por DSC

6.1.2.Família A

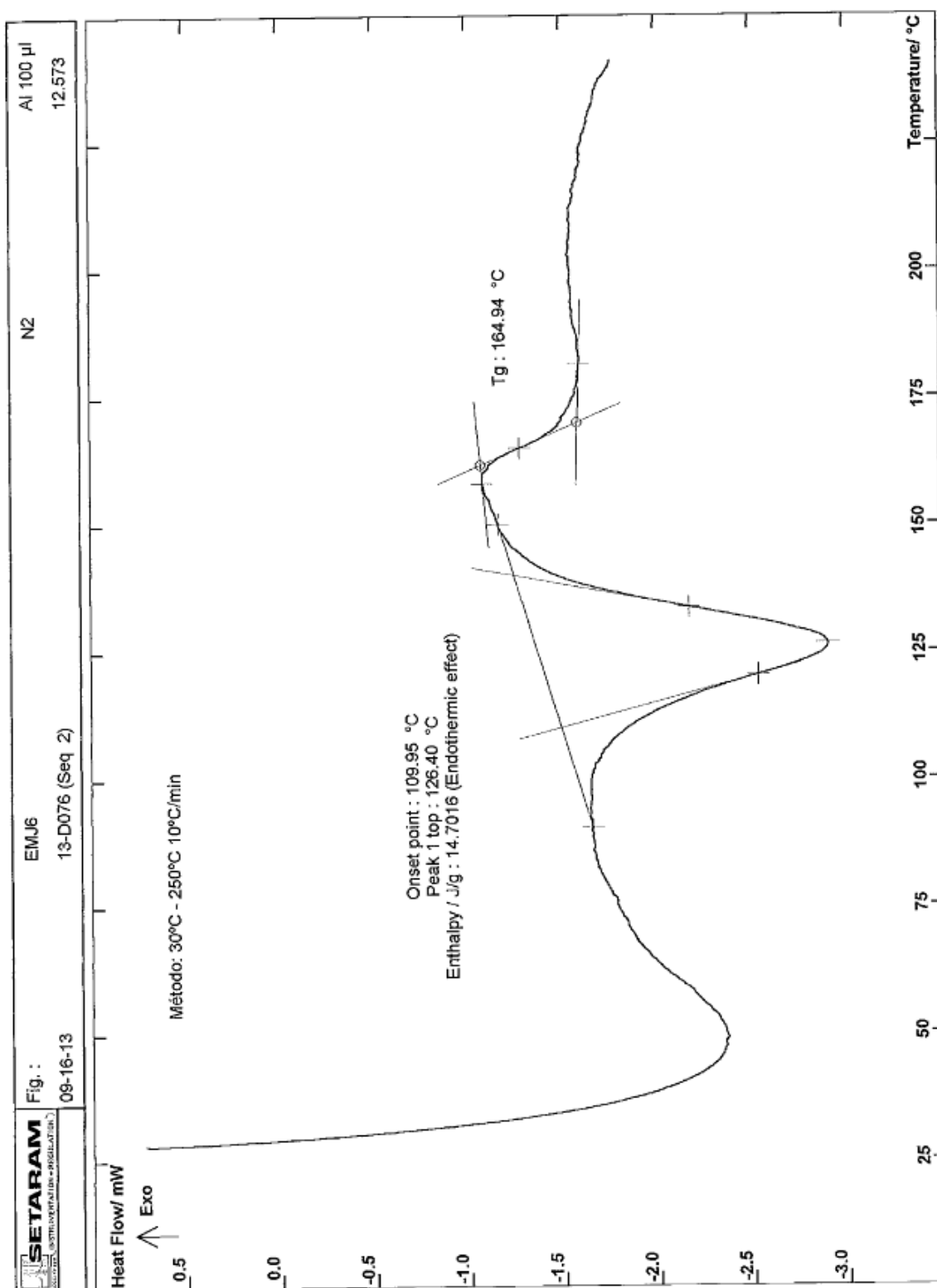


Figura 6.2. – Termograma das micropartículas de etilcelulose+10% vitamina K1 com naproxeno obtido por DSC

6.1.3.Família B

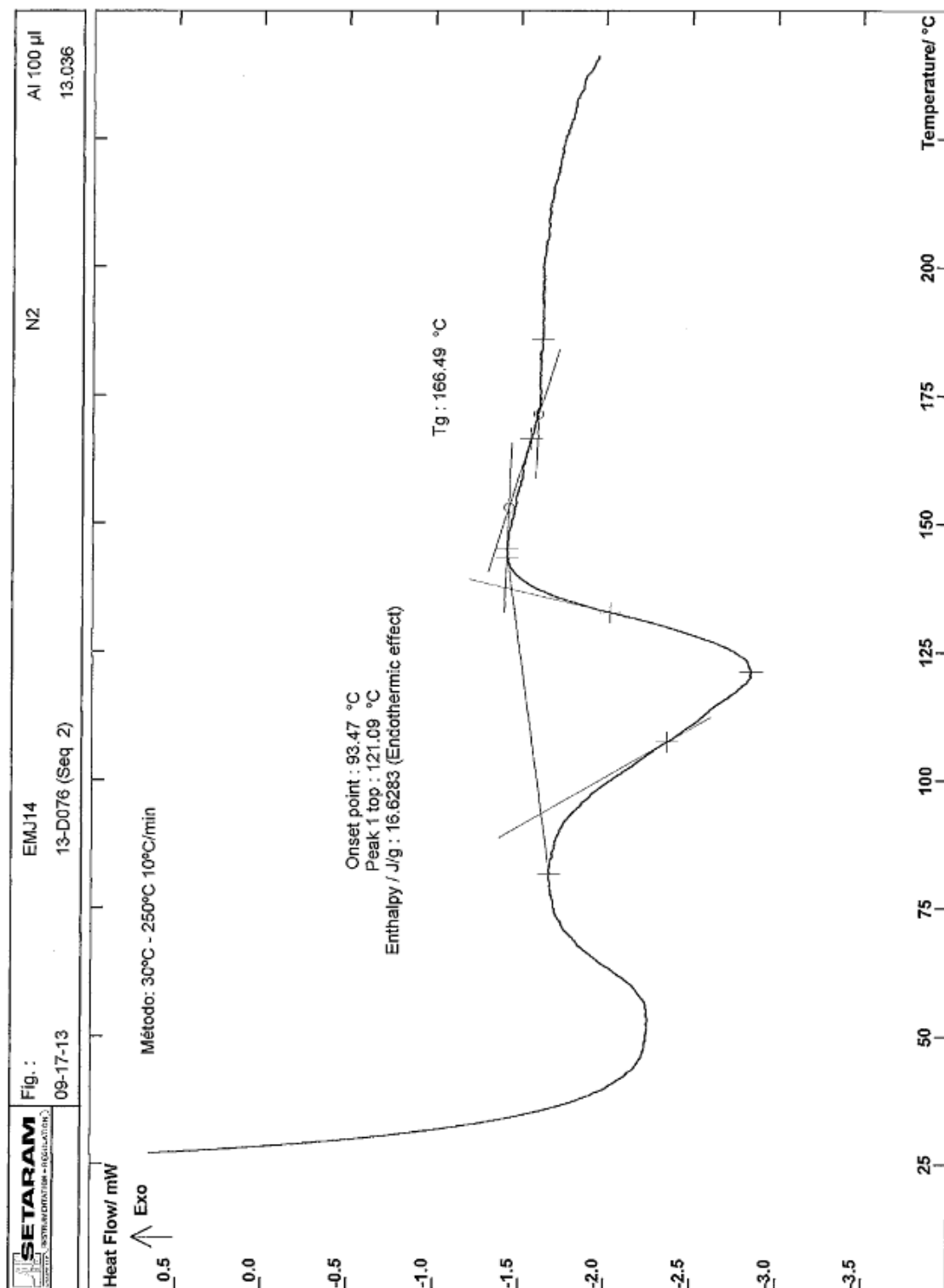


Figura 6.3. – Termograma das micropartículas de etilcelulose+10% trietil citrato com naproxeno obtido por DSC

6.1.4.Família C

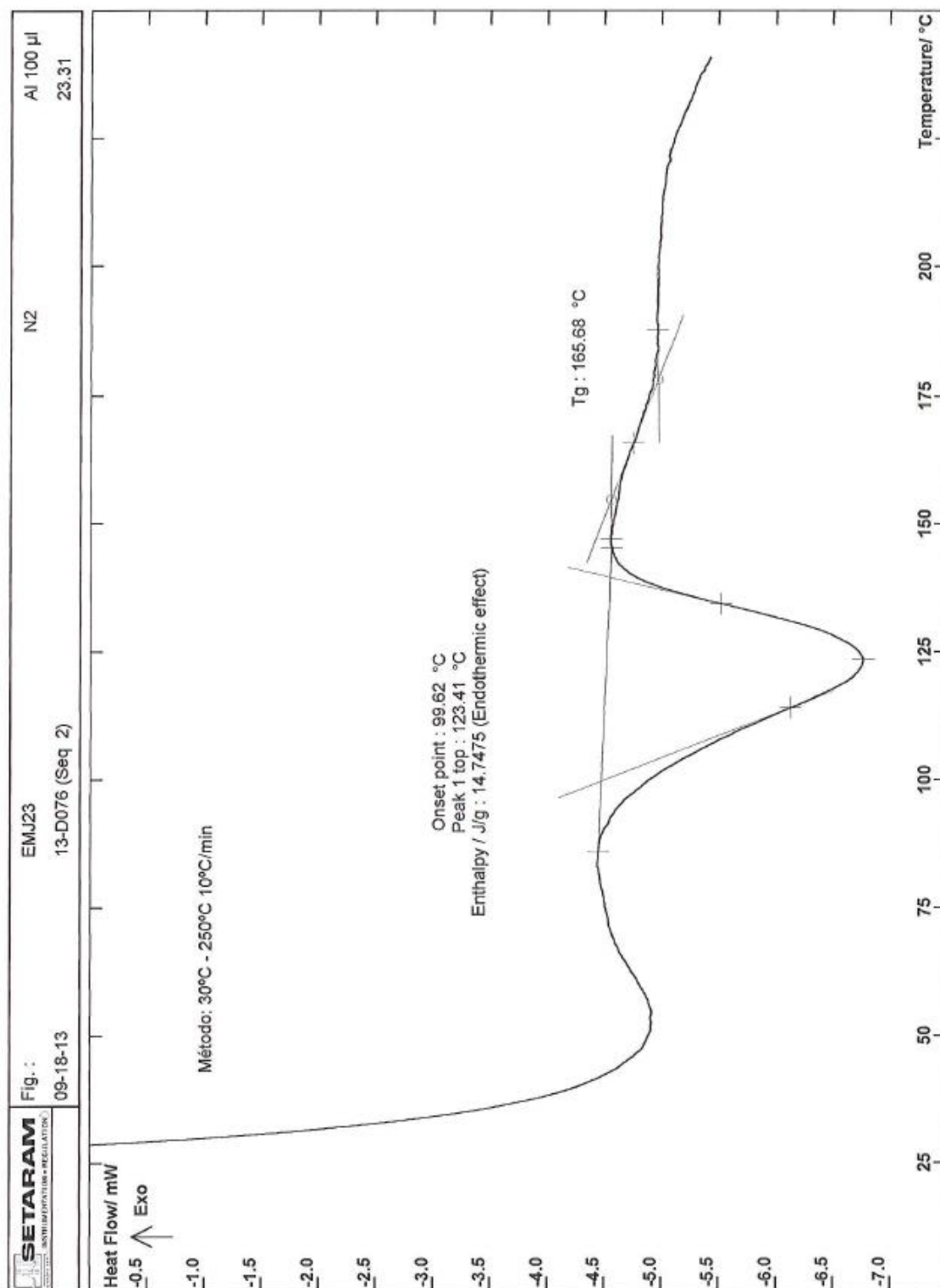


Figura 6.4. – Termograma das micropartículas de etilcelulose+10% trietil citrato com naproxeno obtido por DSC